

UNIVERSITE CLAUDE-BERNARD - LYON

- MEDECINE -

U. E. R. ALEXIS-CARREL

Année 1979 - N° 455

**UTILISATION EN DERMATOLOGIE
D'UNE MICROMETHODE DE DETECTION
D'ACTIVITES ENZYMATIQUES.**

**Application à divers états pathologiques
(psoriasis, vitiligo,
nævus nævo-cellulaire, mélanome malin).**

THESE

présentée

à l'Université Claude-Bernard - LYON

et soutenue publiquement le 23 Novembre 1979

pour obtenir le grade de Docteur en Médecine

par

Gilles GARIDELLI de QUINCENET

Ancien Elève de l'Ecole du Service de Santé des Armées de Lyon

né le 12 Février 1951

à TAHITI (Polynésie Française)



Digitized by the Internet Archive
in 2026

https://archive.org/details/IA41554215_0024

UNIVERSITE CLAUDE-BERNARD - LYON

- MEDECINE -

U. E. R. ALEXIS-CARREL

Année 1979 - N°

**UTILISATION EN DERMATOLOGIE
D'UNE MICROMETHODE DE DETECTION
D'ACTIVITES ENZYMATIQUES.**

**Application à divers états pathologiques
(psoriasis, vitiligo,
nævus nævo-cellulaire, mélanome malin).**

THESE

présentée

à l'Université Claude-Bernard - LYON

et soutenue publiquement le 23 Novembre 1979

pour obtenir le grade de Docteur en Médecine

par

Gilles GARIDELLI de QUINCENET

Ancien Elève de l'Ecole du Service de Santé des Armées de Lyon

né le 12 Février 1951

à TAHITI (Polynésie Française)

UNIVERSITÉ CLAUDE-BERNARD - LYON

- MÉDECINE -

M. B. R. ALEXIS-CARREL

Année 1965 - 1966

UTILISATION EN DERMATOLOGIE
D'UNE MICROMÉTHODE DE DÉTECTION
D'ACTIVITÉS ENZYMATIQUES.

Application à divers états pathologiques
(psoriasis, vitiligo,
nevus nevo-celluleux, mélanome malin).



THÈSE

présentée

à l'Université Claude-Bernard - LYON

et soutenue publiquement le 23 novembre 1965
pour obtenir le grade de Docteur en Médecine

par

Gilles GABRIEL de QUINCENET

né le 15 février 1937

à TAHITI (Polynésie Française)

UNIVERSITE CLAUDE BERNARD - LYON I

Président : Mr le Professeur D. GERMAIN

Premier Vice-Président : Mr le Professeur EL BAZ

Deuxième Vice-Président : Mr E. OUDIN, Maître Assistant

Troisième Vice-Président : Mlle A. ECHALLON, Etudiante

Secrétaire Général de l'Université : Mr J. RAMBAUD, Administrateur civil

Unités d'Enseignement et de Recherche (U.E.R)

Faculté de Médecine GRANGE-BLANCHE : Mr le Professeur B. Salle

Faculté de Médecine ALEXIS CARREL : Mr le Professeur R. MORNEX

U.E.R. de Médecine LYON NORD : Mr le Docteur J.P. NEIDHARDT, Maître de Conférences

Faculté de Médecine LYON SUD : Mr le Professeur J. NORMAND

U.E.R. des Sciences Pharmaceutiques : Mr le Professeur C.A. BIZOLLON

U.E.R. des Techniques de Réadaptation : Mr le Professeur A. MORGON

U.E.R. des Biologie Humaine : Mr J.P. REVILLARD, Maître de Conférences

U.E.R. d'Education Physique et Sportive : Mr A. MILLON, Professeur EPS

U.E.R. des Sciences Odontologiques : Mr le Docteur R. VINCENT

U.E.R. de Mathématiques : Mr le Professeur P. PICARD

U.E.R. de Physique : Mr le Professeur J. DELMAU

U.E.R. de Chimie Biochimie : Mr le Professeur J. HUET

U.E.R. des Sciences de la Nature : Mr le Professeur R. GINET

U.E.R. des Sciences Physiologiques : Mlle le Professeur J.F. WORBE

U.E.R. de Physique Nucléaire : Mr le Professeur M GUSAKOW

I.U.T. 1 : Mr le Professeur A. VILLE

I.U.T. 2 : Mr J. GALLET, Directeur ENSAM

Observatoire de Lyon : Mr G. MONNET, Astronome Adjoint

U.E.R. de Mécanique : Mlle le Professeur G. COMTE-BELLOT

RESPONSABLES D'ENSEIGNEMENT
DE LA FACULTE ALEXIS CARREL

1er CYCLE

Anatomie - M. Le Professeur BOUCHET Alain
Histologie-Embryologie-Cytogénétique-Biologie - M. Le Professeur GIROD Christian
Chimie-Biochimie structurale - M. Le Docteur NOFRE - Maître de Conférences Agrégé
Biochimie Médicale - M. Le Professeur REBOUD J.P.
Mathématiques-Statistiques - M. Le Professeur SITE Jean
Physiologie - M. Le Docteur PELLET Michel, Maître de Conférences Agrégé
M. Le Docteur SCHMITT Michel, Maître de Conférences Agrégé
Physique-Biophysique - M. Le Professeur BERGER Michel
Psychologie Médicale - M. Le Professeur GUYOTAT Jean
Sciences Sociales et Economie Médicale - M. Le Professeur ROCHE Louis

2ème CYCLE

Anatomie Pathologique - M. Le Professeur TOMMASI Michel
M. Le Docteur LOIRE Robert, Maître de Conférences Agrégé
Bactériologie - M. Le Professeur FLEURETTE Jean
Cardiologie - M. Le Professeur GONIN André - M. Le Professeur DELAHAYE J.P.
Chirurgie Cardiaque -
Chirurgie digestive - M. Le Professeur MAILLET Paul
Chirurgie infantile - M. Le Docteur DAUDET, Maître de Conférences Agrégé
Chirurgie osseuse-orthopédique - M. Le Professeur de MOURGUES Georges
M. Le Docteur COMTET J.Jacques
Maître de Conférences Agrégé
Dermatologie - M. Le Docteur PERROT Henri, Maître de Conférences Agrégé
Endocrinologie et nutrition - M. Le Docteur BERTHEZENE François
Maître de Conférences Agrégé
Gastro-Entérologie - M. Le Docteur DESCOS Louis, Maître de Conférences Agrégé
Génétique Générale - M. Le Professeur HERMIER Michel
Gynécologie - M. Le Professeur ROCHET Yves
M. Le Docteur BREMOND Alain, Maître de Conférences Agrégé
Hygiène - M. Le Docteur MONIER J.Claude - Maître de Conférences Agrégé
Maladies infectieuses - M. GIROUD Maurice, Professeur Agrégé du Val de Grâce
Maladies du sang - M. Le Professeur REVOL Louis

Médecine expérimentale - M. Le Professeur MORNEX René

Médecine légale - M. Le Professeur ROCHE Louis

Médecine du Travail - M. Le Professeur BOURRET Jacques

Néphrologie - M. Le Professeur FRANCOIS Bernard

Neuro-chirurgie - M. Le Docteur FISCHER Georges - Maître de Conférences Agrégé

M. Le Docteur DERUTY Robert - Maître de Conférences Agrégé

Neurologie - M. Le Professeur DEVIC Michel

M. Le Docteur TROUILLAS Paul, Maître de Conférences Agrégé

Obstétrique - M. Le Professeur GARMIER René

Ophtalmologie - M. Le Professeur PAUPERT-RAVAULT Maurice

Oto-Rhino-Laryngologie - M. Le Professeur MARTIN Henri

Parasitologie - M. Le Docteur BATTESTI Marie-Rose, Chef de Travaux

Pédiatrie - M. Le Professeur FRANCOIS René

Pharmacologie - M. Le Docteur EVREUX J. Claude, Maître de Conférences Agrégé

Pneumo-Phthisiologie - M. Le Professeur TOURAINE Roger

M. Le Docteur BERNARD J. Pierre, Maître de Conférences Agrégé

Psychologie - M. Le Professeur GUYOTAT Jean

M. Le Docteur MARIE-CARDINE Michel, Maître de Conférences Agrégé

Radiologie - M. Le Docteur BUFFARD Pierre, Maître de Conférences Agrégé

M. Le Docteur CHOLLAT Louis, Maître de Conférences Agrégé

Rhumatologie - M. Le Professeur MEUNIER Pierre

Séméiologie Chirurgicale - M. Le Docteur VIGNAL Jacques, Maître de Conférences
Agrégé

Séméiologie Médicale - M. Le Professeur VIALA J. Jacques

Stomatologie - M. Le Professeur DUMAS Pierre

Thérapeutique, Rééducation et Réadaptation fonctionnelle -

M. Le Docteur EYSSETTE Michel, Maître de Conférences
Agrégé

Traumatologie, Chirurgie générale - M. Le Docteur SPAY Georges, Maître de
Conférences Agrégé

M. Le Docteur TISSOT Etienne, Maître
de Conférences Agrégé

Urgence-Réanimation - M. Le Professeur DELEUZE Raymond

Mme Le Docteur ESTANOVE Suzanne, Maître de Conférences Agrégé

Urologie - M. Le Docteur PERRIN Paul

A MA FEMME DANIELE,

Avec tout mon Amour et en remerciement de la part ingrate qu'elle a prise dans ce travail.

A MA FILLE STEPHANIE,

Avec toute ma tendresse.

A MES PARENTS,

Vous restez pour moi l'exemple du travail et de la joie de vivre.

Je vous dédie ce travail. Qu'il soit la preuve de mon amour et de mon extrême reconnaissance.

A MA SOEUR,

Avec toute mon affection.

A MES BEAUX-PARENTS,

Pour le soutien qu'ils m'ont toujours apporté et en témoignage de ma sincère amitié.

A TOUS MES AMIS

A MES CAMARADES DE L'Ecole du Service DE SANTE DES ARMEES.

A NOTRE PRESIDENT DE THESE :

Monsieur le Professeur J. THIVOLET

Il nous a fait l'honneur d'accepter la
présidence de notre Jury de thèse.

Qu'il veuille bien trouver ici l'expression
de notre reconnaissance et de notre profond respect.

AUX MEMBRES DE NOTRE JURY :

Monsieur le Professeur P. LAVIOLETTE,

Vous avez eu la gentillesse de bien vouloir nous accueillir dans votre laboratoire et avez suivi ce travail avec le plus grand intérêt.

Veuillez trouver ici le témoignage de notre respectueux attachement.

Monsieur le Professeur D. COLOMB,

Nous le remercions de bien vouloir juger ce travail et l'assurons de notre sincère reconnaissance.

Monsieur le Professeur J.P. REBOUD,

Nous vous remercions d'avoir aimablement accepté de nous juger et vous assurons de notre sincère reconnaissance.

Monsieur le Docteur H. PERROT, Maître de
Conférence agrégé,

Nous le remercions de l'honneur qu'il nous fait en acceptant de juger ce travail.

Monsieur le Docteur J.P. ORTONNE,

Vous nous avez aidé à l'élaboration de ce travail. Veuillez bien croire en l'assurance de notre vive gratitude.

Au Médecin Principal D. ARNOUX,
Chef de Service de Dermatologie de l'H.I.A. A. LAVERAN

Vous m'avez fait connaître la Dermatologie.
Votre enseignement vivant et rigoureux restera pour moi
un guide précieux. Que ce Travail soit l'expression de
ma profonde reconnaissance.

Au Médecin en Chef R. EMERIC,

En vous remerciant de l'aide précieuse que
vous nous avez apportée.

Au Docteur FOLLANA,

En remerciement du concours apporté à ce
travail.

Je remercie toute l'équipe du laboratoire de Biologie de l'I.N.S.A. pour son sympathique accueil et son précieux concours.

Je tiens à remercier tout particulièrement Madame C. KHATCHADOURIAN dont la part active à la réalisation de ce travail m'a été précieuse.

Je remercie la Société API qui nous a fourni les moyens de mener à bien ce travail.

A Monsieur le Médecin Général J. THALABARD,

Commandant l'Ecole du Service de Santé
des Armées.

A Monsieur le Médecin Général J.L. RIGAUD,

Médecin Chef de l'Hopital d'Instruction
des Armées A. LAVERAN

Au Médecin en Chef Y. PHILIPPE,

Chef du Service de Neurologie de l'H.I.A.
A. LAVERAN.

SOMMAIRE

	<u>PAGES</u>
INTRODUCTION	7
CHAPITRE I : REVUE DE LA LITTERATURE	9
I - LES ENZYMES DE LA PEAU	11
A - L'EPIDERME	12
1- Les enzymes respiratoires	12
a) Les enzymes de la voie d'Emden-Meyerhof	13
1. L'hexokinase et la glucose-6-phosphatase	14
2. La phosphoglucosomérase, la phosphoglu-	14
comutase	14
3. L'aldolase	14
4. Glycérol-3-phosphate déshydrogénase	15
5. L'énolase et la pyruvate kinase	16
6. La lactate déshydrogénase	16
b) Les enzymes du cycle de KREBS	17
1. L'isocitrate déshydrogénase	18
2. La malate déshydrogénase	20
3. La succino-déshydrogénase	21
c) Les enzymes du shunt des hexoses monophos-	23
phate	23
1. La glucose-6-phosphate déshydrogénase	24
2. La 6-phosphogluconate déshydrogénase	24
2- Les hydrolases acides	25
a) Les esters hydrolases	26
1. Phosphatase acide	26
2. Les sulphatases	27
3. Les estérases, lipases	27
4. La pyrophosphatase	28
b) Les glycosidases	28
c) Les protéases	30
d) Les nucléases acides	31
3- La phosphatase alcaline	32
B - LE DERME	32
1- Les enzymes des cellules du derme	32
2- Les enzymes des vaisseaux sanguins	33
3- Les enzymes du tissu conjonctif	33

	<u>PAGES</u>
II - L'HISTOCHIMIE DU PSORIASIS	34
A - LA LESION PSORIASIQUE	36
1- Les enzymes du métabolisme carbohydrique	36
a) Les enzymes de la voie d'EMBDEN-MEYERHOF	37
1. L'hexokinase, la glucose-6-phosphatase, la phosphoglucomutase	37
2. L'uridine diphosphoglucose déshydrogénase	37
3. La phosphoglucosomérase, la phospho-fructokinase, l'aldolase	38
4. La glycéraldéhyde-3-phosphate déshydrogénase, l'énolase, la pyruvate kinase	38
5. La lactate déshydrogénase	39
b) Les enzymes du cycle de KREBS	39
c) Les enzymes du shunt des hexoses-monophosphate	40
2- Les hydrolases acides	42
a) Phosphatase acide	43
b) Les sulfatases	43
c) Les estérases, lipases	44
d) L'adényl cyclase, la phosphodiesterase	44
e) Les glycosidases	46
f) Les nucléases acides	46
B - LA PEAU APPAREMMENT SAIN DE PSORIASIS	48
III - HISTOCHIMIE DU VITILIGO	51
IV - HISTOCHIMIE DES NAEVI NAEVO-CELLULAIRES	52
V - HISTOCHIMIE DU MELANOME MALIN	55
A - LES HYDROLASES	55
B - LES ENZYMES DU METABOLISME CARBOHYDRIQUE	57
CHAPITRE II : MATERIEL ET METHODE	61
LE MATERIEL	63
I - MODES DE PRELEVEMENT	63
A - LA BIOPSIE	63
B - L'EXERESE EN TOTALITE	65
II - MODE DE CONSERVATION	65
III - ETUDE DES ECHANTILLONS	66
A - L'ECHANTILLON TEMOIN	67
1- Age des sujets	67
2- Localisation anatomique des biopsies cutanées	68
3- Poids frais des prélèvements de l'échantillon témoin	68

	<u>PAGES</u>
B - L'ECHANTILLON DE PEAUX PSORIASIQUES ET APPAREMMENT SAINES DE PSORIASIS	69
1- Observations cliniques	69
2- Age des sujets et types de psoriasis	71
3- Poids frais des peaux psoriasiques et apparemment saines de psoriasis	71
C - L'ECHANTILLON DE VITILIGO ET DE PEAUX SAINES DE VITILIGO	72
1- Age et sexe des sujets	72
2- Poids frais des prélèvements	73
D - L'ECHANTILLON DES NAEVI NAEVO-CELLULAIRES	73
1- Données cliniques	73
2- Poids frais des prélèvements	75
E - L'ECHANTILLON DE MELANOME MALIN	75
LA METHODE	76
I - LE DISPOSITIF TECHNIQUE	76
A - DISPOSITIF	76
B - STRUCTURE DU DISPOSITIF API ZYM	78
1- Forme du dispositif	78
2- Le support	79
II - LA METHODE	80
A - LES HYDROLASES	80
1- Les enzymes et les substrats	80
a) Les substrats	80
b) Activités enzymatiques recherchées et leurs substrats	81
1. Phosphatases	81
2. Estérases-Lipases	81
3. Protéases	81
4. Glycosidases	85
5. Arylsulfatases	85
c) Concentration en substrats utilisée	85
2- Les tampons et leur pH	87
3- Mise en évidence des activités hydrolases	88
a) Principe de mise en évidence	88
b) Le sel de diazonium	88
c) Solubilisation des colorants azoïques	88
d) Technique de révélation des activités enzymatiques	89
4- Durée d'incubation des hydrolases	89
B - LES DESHYDROGENASES	90
1- Les composants de la galerie déshydrogénase	90

	<u>PAGES</u>
a) Le sel de tétrazolium utilisé	90
b) Les substrats, leur concentration	91
c) Concentration en coenzymes, phénazine méthosulfate	91
d) Le tampon utilisé	92
e) Polyvinylpyrrolidone	92
2- Réalisation de la galerie	93
3- Durée d'incubation	93
C- MODE OPERATOIRE DES GALERIES HYDROLASES ET DESHYDROGENASES	93
1- Mode opératoire des hydrolases	93
2- Mode opératoire des déshydrogénases	94
D- LECTURE SEMI-QUANTITATIVE DES GALERIES	95
III - METHODE API EN DERMATOLOGIE	96
A - PREPARATION DES PRELEVEMENTS	96
B - MESURE DES ACTIVITES ENZYMATIQUES EN nM/mg/h DE SUBSTRAT LIBERE	96
CHAPITRE III : RESULTATS ET COMMENTAIRES	96
I - ACTIVITES ENZYMATIQUES DE LA PEAU SAINTE	102
A - REMARQUES	103
1- Le mode de conservation	103
2- La dilution utilisée	103
B - LES RESULTATS	104
1- L'homogénéité de la population témoin	104
a) Les hydrolases	104
b) Les déshydrogénases	104
c) L'activité enzymatique totale	105
2- Réactions non révélées	106
a) La lipase	107
b) Les glycosidases	108
c) Les protéases	108
d) Les déshydrogénases	109
3- Activités enzymatiques révélées par la méthode API	110
a) Les phosphatases	110
b) Les estérases	111
c) Les glycosidases	112
d) Les protéases	113
e) Les déshydrogénases	117
C - CONCLUSIONS	118

	<u>PAGES</u>
II - ACTIVITES ENZYMATIQUES DE LA PEAU APPAREMMENT SAINE ET DE LA LESION PSORIASIQUE	121
A - ACTIVITES ENZYMATIQUES DE LA PEAU APPAREMMENT SAINE DE PSORIASIS	121
1- Réactions non révélées	121
2- Activités révélées	123
B - ACTIVITES ENZYMATIQUES DE LA PLAQUE PSORIASIQUE	124
1- Réactions non révélées	124
2- Activité enzymatique totale de la lésion psor- iasique	124
3- Réactions révélées	128
a) Les phosphatases	129
b) Les estérases	130
c) Les glycosidases	130
d) Les protéases	132
e) Les déshydrogénases	134
C - CONCLUSIONS	135
III - ACTIVITES ENZYMATIQUES DU VITILIGO	137
A - REACTIONS NON REVELEES	137
B - REACTIONS REVELEES	137
IV - ACTIVITES ENZYMATIQUES DES NAEVI NAEVO-CELLULAIRES	141
A - ACTIVITES ENZYMATIQUES DE L'ENSEMBLE DE L'ECHANTILLON	141
1- Réactions non révélées	142
2- Réactions révélées	142
a) Les phosphatases	144
b) Les estérases, lipases	144
c) Les glycosidases	146
d) Les protéases	146
e) Les déshydrogénases	147
B - ACTIVITES COMPAREES DES NAEVI NAEVO-CELLULAIRES AVEC ET SANS ACTIVITE JONCTIONNELLE	148
C - CONCLUSIONS	151
V - ACTIVITES ENZYMATIQUES DU MELANOME MALIN	153
A - REACTIONS NON REVELEES	153
B - REACTIONS REVELEES	154
1- Les phosphatases	154
2- Les estérases, lipases	155
3- Les glycosidases	155
4- Les protéases	157
5 - Les déshydrogénases	158

	<u>PAGES</u>
C - ACTIVITES COMPAREES DES NAEVI NAEVO-CELLULAIRES ET DES MELANOMES MALINS	160
D - CONCLUSIONS	160
CONCLUSIONS	162
ANNEXES	167
BIBLIOGRAPHIE	183

INTRODUCTION

Au cours de ces vingt dernières années, l'Enzymologie a beaucoup contribué à une meilleure connaissance des mécanismes intimes qui régissent la vie. Devant la complexité des problèmes auxquels elle est confrontée, de nombreux progrès technologiques sont constamment réalisés pour caractériser et doser les enzymes. Mais, devenant de plus en plus élaborées, les méthodes d'analyses nécessitent un équipement de laboratoire toujours plus important et coûteux, ainsi que des compétences sans cesse accrues de la part de ceux qui les pratiquent.

Sans vouloir renier l'Enzymologie fondamentale et les méthodes histochimiques et biochimiques traditionnelles, nous avons utilisé pour ce travail une microméthode récente de détection et de mesure d'activités enzymatiques : API ZYM. Imaginée en 1967 par BUISSIÈRE, c'est à MONGET que l'on doit sa mise au point définitive.

Des travaux, réalisés en comparaison avec des techniques classiques, ont prouvé l'intérêt et la reproductibilité de cette méthode commercialisée par la Société API.

Les atouts majeurs de cette méthode, miniaturisation et simplicité, nous permettent d'obtenir simultanément la mesure de 67 activités enzymatiques et de définir ainsi le "profil enzymatique" ou "zymogramme" du matériel biologique étudié.

Dans ce but, c'est dans le domaine dermatologique que nous avons entrepris ce travail, non encore réalisé à si large échelle avec cette méthode. Outre la peau saine normale, plusieurs affections dermatologiques seront étudiées :

- le psoriasis
- le vitiligo
- les naevi naevo-cellulaires
- le mélanome malin.

Dans une première partie, nous rapporterons les données bibliographiques actuelles de l'enzymologie cutanée, tant en ce qui concerne la peau normale et pathologique que les proliférations cellulaires naeviques et mélaniques. Ce chapitre, non exhaustif, regroupera les enzymes les plus importantes et particulièrement celles retrouvées dans la méthode API.

La seconde partie sera consacrée, dans un premier temps, aux matériels biologiques étudiés dans ce travail puis à la méthode elle-même. Pour cette dernière, nous avons largement utilisé le travail réalisé par MONGET pour sa thèse de doctorat.

Dans la dernière partie, nous rapporterons les résultats obtenus, d'une part au niveau de la peau saine normale, d'autre part au niveau des différentes affections dermatologiques étudiées.

Nous nous sommes fixés pour ce travail plusieurs objectifs :

- l'étude comparée de nos résultats, obtenus avec une méthode semi-quantitative, à ceux de la littérature,

- l'établissement d'un "zymogramme" pour chacune des affections étudiées et leur comparaison à celui de la peau saine normale.

- un troisième objectif, la mise en évidence éventuelle d'activités enzymatiques spécifiques, de par leur intensité, du matériel étudié. Ce dernier but concerne essentiellement les naevi naevocellulaires et les mélanomes malins. Peut-on déterminer enzymologiquement l'éventuelle transformation maligne d'un naevus naevo-cellulaire bénin ?

PREMIERE PARTIE

REVUE DE LA LITTERATURE

On a pensé, pendant de nombreuses années, que les enzymes cutanées étaient transportées par voie sanguine des organes internes à la peau. L'évolution des méthodes histochimiques, puis par la suite, la venue de la microscopie électronique ont permis de déterminer que la peau possédait son propre équipement enzymatique ; elle n'était plus seulement un organe excréteur et protecteur.

Depuis les travaux de UNNA (304-305), père de l'histochimie cutanée, et les études de biologistes et biochimistes : EDWARDS et DUNTLEY (75), ROTHMAN (272-273), HORSTMANN (142), de très nombreux auteurs se sont penchés sur l'enzymologie de la peau.

Nous reporterons dans ce chapitre les données bibliographiques actuelles concernant l'histoenzymologie de la peau humaine saine et des affections dermatologiques étudiées dans ce travail.

I - LES ENZYMES DE LA PEAU

En plus des études consacrées à une activité enzymatique précise ou à un groupe d'enzymes, de nombreux articles ayant trait à l'enzymologie cutanée dans son ensemble ont été publiés ; tels ceux de HERSHEY (133-136-137), ELLIS (79), BRAUN-FALCO (36), WEBER (325), JARRETT (163-166).

Nous avons choisi de classer, pour plus de clarté, les différentes activités enzymatiques, d'une part en fonction de leur localisation cutanée, c'est-à-dire plus spécifiquement épidermiques ou dermiques, d'autre part selon les grandes voies métaboliques existantes au niveau de la peau.

La peau contient différents groupes d'enzymes :

- L'épiderme renferme des enzymes en relation avec le métabolisme cellulaire comprenant les enzymes respiratoires du cycle de KREBS, le shunt des pentoses, les systèmes cytochromes oxydases ainsi que ceux qui sont en rapport avec la synthèse des protéines. Le groupe d'enzymes qui est peut être le plus caractéristique de l'épiderme est celui qui est en relation avec la kératogénèse des couches les plus élevées de l'épiderme. Celles-ci comprennent une grande variété d'hydrolases acides contenues dans les lysosomes et sont responsables de la suppression des organites cellulaires avant que ne se forme la couche cornée. Bien que les enzymes responsables de la formation des protéines aient été peu étudiées dans la peau, il est évident qu'elles existent dans les cellules des couches inférieures de l'épiderme où s'effectue une synthèse protéinique très active. Elles sont nécessaires à la formation des protéines cellulaires et des protéines nucléaires intervenant dans la division cellulaire.

- Le derme possède un système d'enzymes dont la distribution est entièrement différente. Dans le collagène, il semble qu'il n'existe que très peu d'activités enzymatiques, mais il a été démontré que des enzymes hydrolytiques sont présentes dans les fibres élastiques. Les cellules du derme contiennent des groupes d'enzymes en rapport avec leurs activités variées : la plupart d'entre elles montre de l'adénosine triphosphatase (A.T.P.) dont l'activité est probablement en rapport avec leur mobilité, tandis que d'autres dénotent une activité hydrolytique qui est probablement fonction de leur action phagocytaire.

Les vaisseaux sanguins révèlent une activité phosphatase alcaline ainsi que de l'adénosine triphosphatase.

A - L'EPIDERME

1 - Les enzymes respiratoires

Les enzymes impliquées dans la rupture oxydative des sucres, selon la voie discutée par EMDEN-MEYERHOF, et la dégradation

finale des sucres, des graisses et des protéines dans le cycle de KREBS, ont été détectées dans la peau humaine. Leur présence a été révélée par des techniques histochimiques et biochimiques.

Les enzymes associées à la scission du glycogène dans la peau sont l'amylo-4-6-transglucosidase (78) et la phosphorylase (31-78). Par leur action, le glycogène est dégradé selon une réaction réversible en glucose-1-phosphate.

L'activité phosphorylasique a été étudiée par de nombreux auteurs japonais (174-301-319).

D'après ELLIS et MONTAGNA, la concentration de ces deux enzymes dans l'épiderme adulte sain est modérée, variant selon les régions du corps et l'âge des sujets (78). La couche basale est très peu réactive, à l'inverse de la couche de Malpighi qui a l'activité la plus importante. Ni l'une ni l'autre de ces activités n'est présente dans la couche granuleuse et cornée. ELLIS et MONTAGNA ont noté des différences d'activités régionales qui semblent être directement liées à l'épaisseur de l'épiderme. En effet, l'épiderme mince ne donne presque pas de réactions à l'inverse de celui de la paume des mains et de la plante des pieds où même la couche basale est réactive.

L'amylophosphorylase prédomine d'autre part au niveau des conduits sudoraux et près des orifices des follicules pileux.

ELLIS et MONTAGNA ont comparé la distribution de l'amylo-1-6-transglucosidase et de la phosphorylase à celle du glycogène d'après un travail de MONTAGNA et Coll. (216). A quelques exceptions près, on trouve ces enzymes dans les cellules contenant du glycogène.

Le glucose-1-phosphate est ensuite dégradé dans la séquence d'EMDEN-MEYERHOF.

a) Les enzymes de la voie d'EMDEN-MEYERHOF

Voie de la glycolyse anaérobie, de nombreuses enzymes impliquées dans cette séquence ont été retrouvées dans la peau humaine. Elles comprennent entre autres l'hexokinase, la phosphoglucose isomérase, l'aldolase, la glycérol-3-phosphate déshydrogénase, la pyruvate kinase, la lactate déshydrogénase.

Ces enzymes dans la peau ont été passées en revue par WEBER (329).

1. L'hexokinase et la glucose-6-phosphatase

Cette enzyme a été étudiée par CRUICKSHANK et Coll. au niveau de la peau humaine (66) et par ADACHI et YAMASAWA chez des primates dont le singe Rhésus (1). Elle permet la transformation du D-glucose en D-glucose-6-phosphate. D'après ADACHI, la peau du primate n'est pas en mesure de transformer le glucose en acide gluconique ou le glucose en sorbitol. Il conclut de ce fait que la phosphorylation du glucose doit être sa seule voie d'utilisation dans la peau et il considère, en ce sens, que l'hexokinase est une des enzymes clefs les plus importantes. Dans la peau et annexes des primates (*Macaca mulatta*, *Macaca speciosa*, *cercopithecus aethiops*), l'activité de l'hexokinase est aussi importante que celle observée dans le cerveau (186), suggérant la présence d'un processus métabolique actif dans les cellules cutanées.

La glucose-6-phosphatase catalyse la réaction inverse de l'hexokinase. L'étude de cette enzyme au niveau de la peau humaine a été faite par BRAUN-FALCO (32).

2. La phosphoglucoisomérase, la phosphoglucomutase

La phosphoglucoisomérase transforme réversiblement le glucose-6-phosphate en fructose-6-phosphate.

Cette activité enzymatique a été étudiée entre autre par STUTTGEN et WUST (296).

La phosphoglucomutase transforme réversiblement comme nous l'indique le Tableau 1 de la glycolyse, le D-glucose-6-phosphate en D-glucose-1-phosphate. WOHNLIICH a étudié cette enzyme au niveau de la peau (341-342).

3. L'aldolase

Analysée dans la peau humaine (320-325-345) et dans le sérum sanguin, cette enzyme transforme le D-fructose-1,6-diphosphate en glycéraldéhyde-3-phosphate.

HERSHEY (136-137) a examiné plusieurs activités enzymatiques des différentes voies du métabolisme carbohydrique dont l'aldolase. En utilisant la méthode décrite par HERSHEY et MENDLE (133), il a constaté que l'aldolase présentait des différences quantitatives

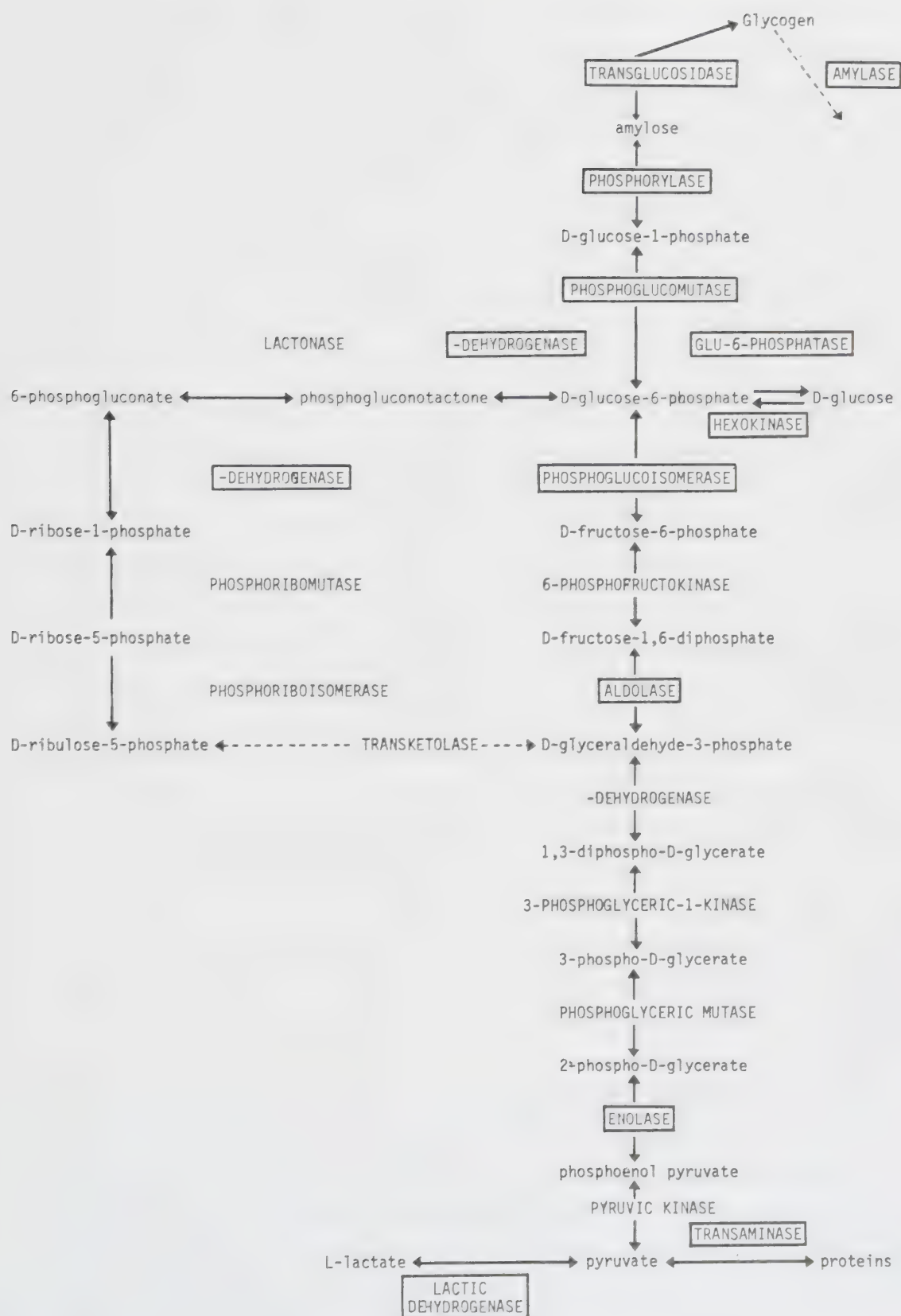


Tableau 1 : Voie de la glycolyse

importantes par rapport à d'autres tissus et au niveau de l'épiderme et de ses annexes. Ainsi, l'activité aldolase d'homogénats épidermiques est équivalente à 10-20% à celle observée dans des homogénats de cerveau de lapin. L'aldolase, comme de nombreuses autres enzymes, est beaucoup plus active dans l'épiderme que dans le derme et il note d'autre part une plus grande activité dans l'épiderme de la région inguinale que dans les glandes sudorales et sébacées.

WEBER a montré que cette enzyme était en plus grande quantité dans le liquide de bulle que dans le sérum sanguin (325).

4. Glycérol-3-phosphate déshydrogénase

Le processus de la glycolyse est une séquence formée d'une vingtaine de réactions enzymatiques à la fin de laquelle le glucose est décomposé en acide pyruvique. La glycérol-3-phosphate déshydrogénase est une des étapes de cette transformation.

Etudiée par IM et Coll. (149) chez les primates, cette enzyme catalyse la phosphorylation du D-glycéraldéhyde-3-phosphate. Le produit de cette réaction étant le 1,3-diphospho-D-glycérate. Elle a été utilisée dans diverses études enzymologiques en tant que modèle des mécanismes de phosphorylation oxydative (309).

Utilisant la méthode de WU et RACKER (344), IM et Coll. ont déterminé la distribution de cette enzyme dans la peau et ses annexes du singe Rhésus.

Présente dans l'épiderme et ses annexes, le taux le plus important est observé au niveau de la couche kératinisée de la plante du pied alors que les glandes sébacées et apocrines reflètent une assez faible activité. La couche cornée, en général, est connue pour être dépourvue d'activité enzymatique ; d'ailleurs des études antérieures de ADACHI et Coll. (1-2) avaient montré l'absence presque totale à ce niveau de la fructoaldolase et de l'hexokinase. De ce fait, IM et Coll. ne peuvent concevoir, à juste titre, que la glycérol-3-phosphate déshydrogénase participe elle-même à la glycolyse dans la couche cornée de l'épiderme de la plante. Ils pensent que cette importante activité dans une telle région du corps reflète la grande stabilité de cette enzyme.

5. L'énolase et la pyruvate-kinase

VON GLASENAPP et LEONHARDI ont étudié l'énolase au niveau de l'épiderme (312). Elle permet la transformation réversible du 2-phospho-D-glycérate en phosphoénol pyruvate, lui même transformé par la pyruvate kinase en acide pyruvique.

6. La lactate déshydrogénase

Cette enzyme catalyse la dernière étape de la voie de la glycolyse, c'est-à-dire la réduction de l'acide pyruvique en acide lactique, utilisant l'hydrogène du NADH.

Dès 1926, la présence de cette enzyme au niveau de la peau était suggérée par WOHLGEMUTH et KLOPSTOCK qui avaient démontré que la peau synthétisait de l'acide lactique à partir du glucose (340).

Des études isotopiques ont montré que 40 à 70% du glucose était converti en acide lactique dans la peau humaine et dans celle du rat (94-254).

Une quantification de l'activité lactate déshydrogénase a été tentée en 1955 par HERSHEY et MENDLE (133). Depuis lors, cette enzyme a été étudiée chez l'homme par de nombreux auteurs, au niveau de la peau normale et pathologique (136-180-279-296-321-323-329), chez le rat (21) et chez les primates (150).

La lactate déshydrogénase a été mise en évidence par plusieurs méthodes (14-185-232) et on en connaît actuellement cinq isoenzymes qui catalysent la même réaction chimique mais diffèrent les unes des autres par leurs migrations électrophorétiques. WEBER a identifié 4 isoenzymes de la lactate déshydrogénase dans l'épiderme et dans les squames de psoriasis (324) en utilisant une méthode électrophorétique (338). QUEVEDO les a étudiés dans l'épiderme de la souris (260). Il reste à déterminer leur distribution dans les différentes couches cutanées.

Les isoenzymes de la lactate déshydrogénase dans la peau sont analogues à celles qui prédominent dans le coeur (type H) et dans les muscles squelettiques (type M). La différence de propriété des isoenzymes cardiaques et musculaires est fonctionnelle (48). HERSHEY a noté que le derme contenait de façon prédominante des isoenzymes de type H qui migrent électronégativement alors que l'épi-

derme qui fabrique une grande quantité d'acide lactique de manière aérobie et anaérobie possède les deux types H et M d'isoenzymes (117).

D'après WEBER (325), l'activité de la lactate déshydrogénase est, comme celle d'autres enzymes, beaucoup plus importante au niveau de l'épiderme que dans le liquide de bulle, dans le parapemphigus par exemple, (322), elle-même plus importante que dans le sérum sanguin. Cette considération a d'ailleurs été un des arguments en faveur de la synthèse cutanée locale des enzymes, et non d'un apport interne par voie sanguine.

L'activité de cette enzyme est maximale au niveau de l'épiderme épais de la plante du pied à l'inverse des enzymes du cycle de KREBS.

D'autre part, le lactate déshydrogénase est plus importante au niveau de l'épiderme abdominal qu'au niveau des glandes sébacées et sudorales (136). Cette distribution topographique est confirmée par l'étude effectuée chez le singe (150), sauf en ce qui concerne les follicules pileux.

Les propriétés de la lactate déshydrogénase au niveau de la peau sembleraient être identiques à celles observées dans d'autres tissus (231-282).

b) Les enzymes du cycle de KREBS

Les enzymes du cycle de KREBS consistent principalement en des séries de déshydrogénases qui catabolisent l'acide pyruvique en eau et gaz carbonique. Ce cycle est également en rapport avec la dégradation finale des lipides et des protéines qui sont d'abord dégradés jusqu'à l'acide pyruvique avant d'entrer dans le cycle. A côté de ces enzymes, la présence dans l'épiderme humain des déshydrogénases succinique et malique a été facilement démontrée par des techniques histochimiques, tandis que d'autres enzymes de cette même série étaient mises en évidence par des méthodes biochimiques.

D'une façon générale, il semble que les cellules des couches inférieures de l'épiderme contiennent plus d'enzymes des cycles d'EMBDEN-MEYERHOF et de KREBS que les couches supérieures. Ceci n'est

pas très évident dans les épidermes minces, mais il est plus facile, dans les épidermes épais, de voir cette variation d'activité enzymatique. On pense que la raison de cette localisation dans les couches les plus profondes de l'épiderme est que l'oxygène moléculaire est nécessaire à la formation de l'eau, et, comme cette région est la plus proche de l'apport sanguin, elle a plus facilement à sa disposition l'approvisionnement en oxygène.

Certains auteurs, tels BARRON et Coll. (16) avaient cru pouvoir conclure que le cycle de KREBS n'avait pas lieu dans la peau. Il était dès lors logique de penser que les autres enzymes du cycle n'étaient pas produites au niveau cutané, mais transportées par voie sanguine pour y être déposées et stockées comme le pensait ROTHMAN (272).

Mais l'existence du cycle de l'acide citrique au niveau de la peau a été déterminée en considérant les arguments suivants :

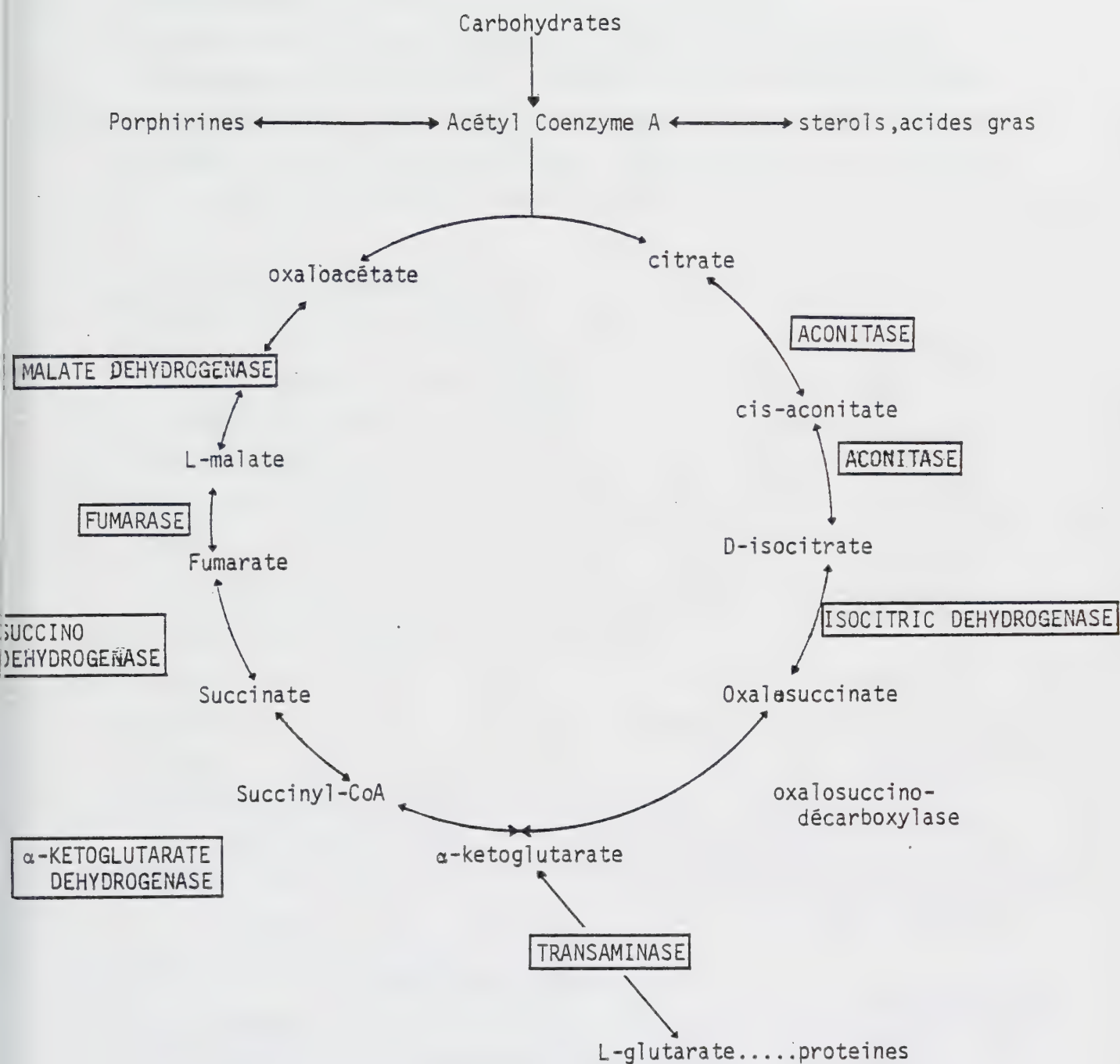
- La mise en évidence des activités enzymatiques. Au terme de 9 réactions, l'acide pyruvique est transformé en acide citrique. Les réactions principales de ce cycle ont été étudiées par divers auteurs au moyen de méthodes histochimiques et biochimiques : aconitase, isocitrate déshydrogénase, α -kéto-glutarate déshydrogénase, succino déshydrogénase, fumarase et malate déshydrogénase (29-66-67-115-124-133-187-298-322-350).

- De la même manière, l'existence du cycle de KREBS a été prouvée par la consommation d'oxygène dans le tissu cutané, laquelle indique les oxydations dans ce cycle. La consommation d'oxygène initialement examinée par GANS (100) fut ensuite étudiée par plusieurs auteurs (101-132-312).

Nous passerons en revue trois de ces activités enzymatiques : l'Isocitrate, la malate et la succino-déshydrogénase.

1. L'isocitrate déshydrogénase

Elle catalyse la transformation de l'acide isocitrique en acide oxalo-succinique.



TABEAU 2 : CYCLE DE KREBS

Les activités de l'isocitrate déshydrogénase trouvées au niveau de l'épiderme sont comparables à celles d'autres enzymes étudiées dans un même matériel : c'est le cas de la lactate déshydrogénase, de la succino déshydrogénase, de la fumarase, de la malate déshydrogénase. Cette enzyme a cependant une activité plus importante que d'autres au niveau de la partie supérieure de l'épiderme.

En ce qui concerne sa distribution cutanée, l'isocitrate déshydrogénase est très active au niveau des glandes sébacées. Sur ce point, les travaux de HERSHEY (137) confirment ceux de CRUICKSHANK et Coll. (67). Les glandes sébacées montrent une grande activité pour deux autres déshydrogénases qui, comme l'isocitrate, sont liées au triphosphopyridine nucléotide (TPN). Il s'agit de la glucose-6-phosphate déshydrogénase et de la 6-phosphogluconate déshydrogénase, toutes deux du shunt des hexoses monophosphates (voie des pentoses). Ces trois déshydrogénases libèrent le TPNH qui est un important donneur d'hydrogène pour la synthèse des lipides produits par ces glandes.

On observe de plus une importante concentration d'isocitrate déshydrogénase au niveau de l'épiderme et des glandes sudoripares, à l'inverse du derme, classiquement pauvre en activités enzymatiques.

L'épaisseur de l'épiderme intervient également. On constate que les enzymes du cycle de KREBS dont l'isocitrate, ont une activité plus basse quand l'épiderme est épais, ce qui est le cas, par exemple, au niveau de la plante des pieds.

2. La malate déshydrogénase

Autre enzyme clef du cycle de KREBS, elle permet la transformation réversible de l'oxaloacétate en L-malate.

Sa distribution est sensiblement identique à celle de l'isocitrate déshydrogénase avec également une prépondérance au niveau des glandes sébacées. Son activité est 5 à 10 fois plus importante dans l'épiderme que dans le derme.

L'électrophorèse a permis à HERSHEY (137) de déterminer au niveau de l'épiderme deux isoenzymes de la malate déshydrogénase.

3. La succino-déshydrogénase

Antérieurement, seul ROGERS (270) avait établi quelques constatations sur la distribution de cette enzyme dans la peau humaine. ELLIS et Coll. (77), PADYKULA (244) avaient brièvement rapporté l'activité succino-déshydrogénase dans la peau d'animaux de laboratoire ainsi que FORMISANO et MONTAGNA (89).

Par la suite, MONTAGNA et FORMISANO (217) ont fait une étude poussée sur la distribution de l'enzyme dans la peau humaine, ainsi que ELLIS (79) et HERSHEY (134).

La succino-déshydrogénase, qui peut être mise en évidence par la méthode de FARBER et LOUVIERE (81), catalyse la transformation de l'acide isocitrique en acide oxalo-succinique. Elle fait partie intégrante du principal système énergétique de la cellule. L'énergie dérivée de l'action de cette dernière et des autres enzymes oxydatives, est essentielle pour la multiplication et la différenciation des cellules épidermiques. Les variations d'activité de cette enzyme dans diverses régions cutanées doivent refléter les différences d'activité mitotique de l'épiderme (217).

L'activité succino-déshydrogénase est présente dans la couche basale de l'épiderme, dans l'enveloppe externe et le bulbe des follicules pileux et dans les glandes sébacées. La réaction la plus intense est notée au niveau des glandes sébacées eccrines et leurs canaux, alors que celle des glandes apocrines est modérée. L'activité enzymatique décroît de la couche basale à la couche cornée où il ne semble pas y avoir de réaction.

L'abondante activité succino-déshydrogénase dans les glandes sébacées est en accord avec le fait que cette enzyme forme un lien dans les processus respiratoires concernés par l'oxydation des lipides, carbohydrates et protéines (297)

L'activité sécrétrice des glandes eccrines est pratiquement inépuisable, mais celle des glandes apocrines est de courte durée (287). L'une des raisons de cette différence pourrait être la grande disparité de la succino-déshydrogénase entre ces deux glandes.

Il existe une bonne corrélation entre l'activité succino-déshydrogénase de l'épiderme et la richesse du lit vasculaire sous-jacent. La cuisse, par exemple, est pauvre en capillaires et a une basse activité enzymatique, à l'inverse de l'épiderme sacré qui a un lit vasculaire important et une haute activité succino-déshydrogénase. D'autre part, HERSHEY (137) a comparé lors des différentes périodes du cycle de la peau chez la souris, la consommation d'oxygène de la peau totale à l'activité succino-déshydrogénase. Les deux courbes sont strictement identiques ; l'activité de l'enzyme variant parallèlement à la consommation d'oxygène. Ces deux paramètres augmentent rapidement pour arriver à un maximum lors du début de la phase anagène, quand la prolifération épithéliale est maximale. Mais lors de la pousse des poils, la consommation d'oxygène et l'activité succino-déshydrogénase sont basses. L'auteur en conclut qu'il n'y a pas de voie complémentaire ou alternée au cycle de KREBS pour la prolifération épithéliale ou la synthèse du poil.

Enfin, la succino-déshydrogénase est une enzyme intramitochondriale comme le suggérait un certain nombre d'auteurs (194-244-288) et ce que confirment les travaux de PEARSE et SCARPELLI (248). Les mitochondries contiennent une forte concentration d'enzymes respiratoires et jouent donc un rôle important dans la phase aérobie du métabolisme du glucose. La phase anaérobie aboutissant à la production de l'acide pyruvique, prend place dans le cytoplasme en dehors des mitochondries.

La localisation cutanée des mitochondries qui contiennent les systèmes déshydrogénases a été étudiée par ZELICKSON (350). Ces organites sont localisés dans des zones de grande activité métabolique : essentiellement dans la couche basale de l'épiderme, les glandes eccrines et à la périphérie des glandes sébacées ; c'est-à-dire les localisations correspondant entre autres à la succino-déshydrogénase.

c) Les enzymes du shunt des hexoses-monophosphate

Une autre voie de dégradation des sucres, connue sous le nom de "shunt des pentoses", existe également dans la peau humaine. Cette séquence a lieu en deux étapes, chacune d'elles étant catalysée par une enzyme spéciale.

C'est ainsi que des méthodes biochimiques ont détecté dans l'épiderme la glucose-6-phosphate déshydrogénase et la 6-phosphogluconate déshydrogénase. L'existence du shunt des pentoses au niveau de la peau, outre la mise en évidence des deux enzymes précédentes, a été confirmée par des études au glucose-6- C^{14} et glucose-1- C^{14} dans des coupes d'épiderme (260-127-254).

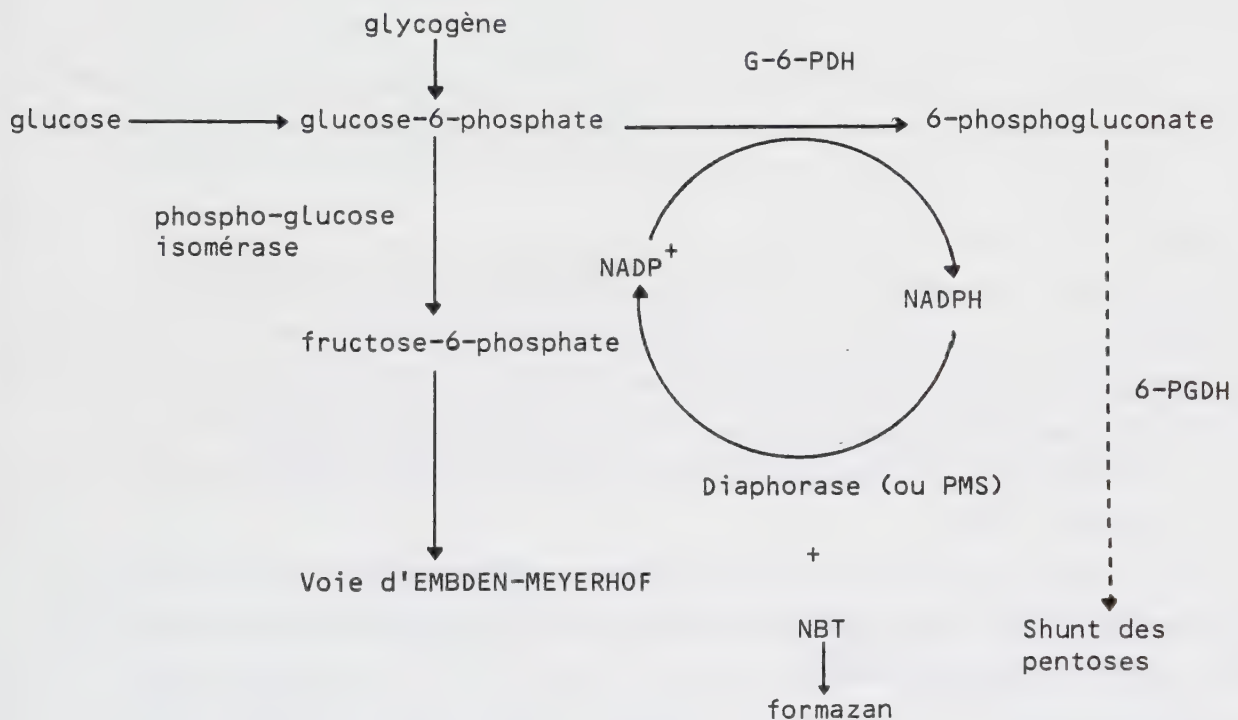


TABLEAU 3 : d'après NEGI et STEPHENS 1977.

1. La glucose-6-phosphate déshydrogénase

Cette enzyme joue un rôle physiologique clef en orientant vers le cycle des pentoses le métabolisme du glucose-6-phosphate qui, en l'absence de cette enzyme, est normalement transformé par voie glycolytique. La glucose-6-phosphate déshydrogénase exerce ainsi un contrôle considérable sur la synthèse des pentoses qui sont des constituants importants des acides nucléiques et de certaines coenzymes tels que le NAD et le coenzyme A (Tableau 3).

Depuis que l'existence du shunt des pentoses a été postulée par BARRON et Coll. (16), la glucose-6-phosphate déshydrogénase a été étudiée par de nombreux auteurs. D'abord par HERSHEY et Coll. (136), WEBER et KORTING (328) dans la peau humaine ; puis par IM et ADACHI chez le primate (151), HASHIMOTO et LEVER dans la peau embryonnaire (128), enfin JARRETT chez l'homme et l'animal (165).

Toutes les méthodes utilisées pour la quantification de la glucose-6-phosphate déshydrogénase au niveau de la peau, dont celle de JARRETT et PLEASE (164), ont montré que cette enzyme était prépondérante au niveau des couches les plus hautes de l'épiderme.

2. La 6-phosphogluconate déshydrogénase

Elle présente également une localisation préférentielle dans la partie haute de l'épiderme, mais sa concentration est cependant deux fois moindre que celle de la glucose-6-phosphate déshydrogénase. Cette notion se retrouve d'ailleurs au niveau du tissu cérébral (346).

D'autre part, comme la glucose-6-phosphate et l'isocitrate déshydrogénase, son activité est importante au niveau des glandes sébacées (135).

La différence de distribution de ces deux enzymes par rapport à d'autres (1-2-3-149-150) indique que la voie prépondérante dans la partie haute de l'épiderme est celle du shunt des hexoses monophosphate. La présence de ces enzymes en cet endroit de la peau est intéressante aux vues des travaux sur l'incorporation de l'histidine dans le haut épiderme et par le fait qu'il y a une synthèse protéique active au niveau de la couche granuleuse (99-265) Si une telle synthèse s'effectue à ce niveau, alors le shunt des pentoses est sans nul doute la voie préférentielle du haut épiderme.

2 - Les hydrolases acides

La destruction organisée des cellules épidermiques est caractéristique et ne se voit que dans les tissus épithéliaux. Les enzymes qui déterminent la dégradation finale des organites cellulaires avant que ne se forme la couche cornée font partie des séries d'hydrolases acides. Il est facile de montrer l'existence de ces enzymes dans l'épiderme et leur concentration dans la couche granuleuse, bien qu'elles soient répandues dans toute l'épaisseur de l'épiderme.

Ces hydrolases comprennent différentes phosphatase acide, bêta-galactosidase, bêta-glucuronidase, aryl sulfatase, des estérases non spécifiques, de la ribonucléase, de la désoxyribonucléase et de la N-acétyl-bêta-glucosaminidase (154-156-158-161)). En plus de ces enzymes qui agissent à un pH acide, JARRETT et coll. ont mis en évidence dans la région de la couche granuleuse, une phosphatase alcaline qui semble en relation avec la dégradation des phospholipides avant la formation de la couche kératinisée (159).

Les phosphatases acides sont des enzymes intra lysosomales. La présence de lysosomes dans les cellules épidermiques a été prouvée grâce au microscope électronique par les travaux de GOLDFISCHER et Coll. (109), d'OLSON et NORDQUIST (240). Leurs recherches portaient sur les phosphatases acides dont certains auteurs pensaient que la localisation était diffuse et non pas intra lysosomale (76-219).

Ces enzymes sont donc formées dans les couches inférieures de l'épiderme où les cellules présentent une activité métabolique importante et sont alors stockées dans les lysosomes, d'où elles sont libérées lorsqu'elles atteignent le niveau de la couche granuleuse.

Le mécanisme qui déclenche leur libération est peu connu. JARRETT et Coll. ont suggéré que le taux élevé des cellules dendritiques pourrait avoir un effet sur le degré d'hydrolyse des cellules des couches supérieures de l'épiderme (160). La peau de la plante des pieds et de la paume des mains contient un taux relativement peu élevé de cellules dendritiques et subit une hydrolyse relativement faible avant la formation de la couche cornée qui est épaisse à cet endroit ; tandis que la peau du dos des mains ou des pieds présente un taux élevé de cellules

dendritiques et une grosse activité hydrolytique qui enlève la majorité du contenu cellulaire. Compte tenu de ces faits, il est tentant de penser, cite JARRETT, qu'il existe une relation entre le nombre élevé de ces cellules et le degré d'hydrolyse. Une autre hypothèse est que le processus de sénescence est responsable de la libération de l'enzyme au niveau de la couche granuleuse, c'est-à-dire après un temps prédéterminé, de la rupture des lysosomes qui déchargent leurs enzymes dans les cellules. Il est aussi possible que le manque progressif d'oxygène dans les couches supérieures de l'épiderme puisse être un facteur déclenchant cette libération.

a) Les esters hydrolases

Les esters hydrolases sont des enzymes capables de dégrader des esters carboxyliques, des esters phosphates, des esters sulphates. La plus connue des esters hydrolases est la phosphatase acide, étudiée au niveau de la peau par de nombreux auteurs.

Ce groupe d'enzyme a été analysé récemment au niveau de la peau par MIER et Coll. (210).

1. Phosphatase acide

Cette enzyme, qui constitue le principal marqueur lysosomal, a été étudiée par des moyens histochimiques (79-169-220), en microscopie électronique (38-76-258) et par des méthodes colorimétriques quantitatives (104-136). Elle a été récemment quantifiée dans le liquide de bulle par VOLDEN (310).

La phosphatase acide est beaucoup plus abondante dans les cellules de la couche granuleuse que dans celles de la couche basale. Une étude récente de ROELFZEMA et Coll. (269) sur les hydrolases acides au niveau des zones calleuses, indique que persiste au processus de kératinisation environ 10% de l'activité phosphatase acide initiale et hydrolase acide en général.

Un travail de IM et Coll. (152) a confirmé les données antérieures sur la localisation de cette enzyme, en utilisant une méthode fluorimétrique (60) à l'inverse des méthodes traditionnelles (170-171). La phosphatase acide est située de manière prépondé-

rante dans la zone de kératogénèse de l'épiderme normal, dans les follicules pileux (220-258) et dans les glandes sébacées (28).

Des variations d'activité régionale ont été mises en évidence chez l'homme (79) et dans la peau du chimpanzé (221).

Dans l'épiderme humain, les analyses quantitatives de phosphatase acide des différentes régions du corps montrent la plus grande activité aux genoux et au pubis et la plus faible au niveau pré-tibial et scapulaire. Il n'y a pas de corrélation objective entre l'abondance de l'enzyme et l'épaisseur de l'épiderme.

La phosphatase acide est dans l'épiderme comme dans les autres tissus, l'estérase la plus active.

2. Les sulphatases

Les arylsulfatases qui catalysent l'hydrolyse des arylsulfates comprennent trois enzymes A, B et C ayant des propriétés différentes.

L'épiderme humain contient deux types de sulfatases : les arylsulfatases A et B (15). Bien que leur localisation intra lysosomale a été mise en évidence par des méthodes histo-chimiques chez la souris (274) et chez l'homme (241), la quantification initiale de l'activité enzymatique a été établie par GOLDBERG et Coll. (108). Ces auteurs rapportent une activité enzymatique de l'ordre de 1,3 nmol./min/g de poids frais de peau totale. Ces enzymes ont été récemment étudiées par CHAPMAN et Coll. (55), leur concentration est très faible au niveau des zones calleuses (269).

3. Les estérases, lipases

Ces enzymes hydrolysent les esters carboxyliques et peuvent être mises en évidence par les esters au 2-naphtol. La limite entre estérases et lipases reste très floue. Il est généralement admis que la chaîne aliphatique de l'ester doit comporter au minimum 14 carbones pour que l'hydrolyse soit spécifique d'une activité lipasique (263).

L'attaque des esters du 2-naphtol à chaîne égale ou inférieure à 10 carbones caractérise les ali-estérases, appelées également arylestérases ou estérases non spécifiques.

Les estérases carboxyliques ont été récemment examinées par MIER et COLL. (210), utilisant une méthode plus sensible que des méthodes colorimétriques ou fluorimétriques. Ils n'observent aucune activité pour des esters C_2 , C_4 ou C_9 (211). Ils estiment que cela résulte d'une interférence avec le taux élevé d'estérases microsomiques. MAHADEVAN et TAPPEL (190) ont montré des estérases lisosomales de foie, de rein, attaquer des esters C_8 - C_{18} ; celles-ci ayant par contre une activité maximale contre des chaînes aliphatiques de l'ester, courtes ou moyennes, mais sans effet sur les longues chaînes. Cette observation a été confirmée au niveau de l'épiderme par MIER et VAN DEN HURK (208). Il n'est cependant pas encore évident que l'estérase lysosomale soit distinct de la lipase lysosomale (191).

MONTAGNA a analysé la distribution des estérases non spécifiques dans la peau humaine (218) et plus récemment IGOSHIN (146). Leur activité est maximale entre la couche granuleuse et la couche cornée. Leur concentration est également abondante dans l'enveloppe externe des follicules pileux et dans les glandes sébacées.

4. La pyrophosphatase

Bien que cette enzyme ait une classification propre (EC 3.6.1.), elle est probablement identique à la phosphodiesterase (EC 3.1.4.1.) qui hydrolyse les nucléotides tels que FAD et ATP (42). L'activité de la phosphodiesterase a été étudiée par DE BERSAQUES dans l'épiderme humain (22). Il observe des valeurs de l'ordre de 10-20 $\mu\text{mol/h/g.}$ de poids sec. Ce résultat est identique à celui observé par MIER et COLL. (210).

b) Les glycosidases

Ces enzymes sont impliquées dans la digestion des oligo et polysaccharides cellulaires et extra-cellulaires, ainsi que dans la régulation du taux des glycolipides, glycoprotéines, glucosaminoglycanes, gangliosides, mucopolysaccharides des tissus. Les glycosidases n'interviennent pas uniquement dans les processus d'hydrolyse, mais ont également des fonctions de transglycosylation.

Les recherches sur les glycosidases ont été d'autant plus importantes qu'existent des affections congénitales liées à des déficits enzymatiques. C'est le cas de la β -galactosidase dans les maladies de HURLER (233), HUNTER (103) et LANDING (68) ; de la N-acétyl- β D-glucosaminidase dans la maladie de TAY-SACHS (95) ; de la β -glucosidase dans la maladie de GAUCHER (145-234).

Le déficit enzymatique peut être mis en évidence dans les maladies de HURLER et de HUNTER sur une biopsie cutanée, d'où l'intérêt diagnostic.

De nombreux auteurs ont étudié les glycosidases dans la peau, dont OHKAWARA et Coll. (239) chez l'homme, MIER et VAN DEN HURK chez le cobaye (211), et la plupart d'entre elles ont été mises en évidence.

Les résultats d'OHKAWARA et Coll. (239) indiquaient que les α D et β D-glucosidases, la β D-glucuronidase, les α D et β D mannosidases, les α D et β D galactosidases, les α L et β D fucosidases présentaient des taux sensiblement identiques, de l'ordre de 0,50 nm/min/mg de protéines ; l'activité de la N-acétyl- β D-glucosaminidase étant plus importante, 8,3 nm/min/mg de protéines.

Ces auteurs constatèrent que les activités de la β -galactosidase, de la N-acétyl- β D-glucosaminidase et de la β -glucuronidase étaient beaucoup plus importantes que celles rapportées par OCKERMAN (233) et GERICH (103), mais dont les dosages portaient sur la peau totale et non sur l'épiderme seul.

D'autre part, OHKAWARA et Coll. ont noté une réaction croisée entre la β D-galactosidase et la β D-glucosidase quand ils utilisaient des substrats au p-nitrophénol. En dehors de ces problèmes liés aux substrats, il semble évident que les profils des glycosidases de l'épiderme et de la peau totale sont significativement différents, en particulier pour la β -galactosidase et la N-acétyl- β D-glucosaminidase dont les activités sont beaucoup plus élevées dans l'épiderme.

Dans une étude réalisée par ROELFZEMA et Coll. (269), ces auteurs rapportent les taux des sept glycosidases précédemment citées. Ces activités sont plus élevées que celles dosées par MIER et VAN DEN HURK (211) chez le cobaye, mais avec toujours une pré-

dominance pour la β -galactosidase, la N-acétyl- β D-glucosaminidase et la β -glucuronidase.

Pour cette dernière enzyme, GIBBS et GRIFFIN ont montré qu'elle était dix fois plus importante dans l'épiderme que dans le derme (105).

Dernièrement, VOLDEN a quantifié les glycosidases dans le liquide de bulle et les activités étaient moins importantes que dans l'épiderme (311).

Les propriétés identiques relevées entre les enzymes épidermiques et les préparations lysosomales ont confirmé la notion déjà connue, que les glycosidases sont d'origine lysosomale.

c) Les protéases

Ce groupe d'enzymes est étudié au niveau de la peau depuis relativement peu de temps. Les aminoacides arylamidases hydrolysent préférentiellement les substrats chromogéniques tels que les aminoacides naphthylamides.

L'enzyme la plus étudiée est la leucine aminopeptidase d'origine lysosomale comme les autres hydrolases acides. L'activité arylamidase a été quantifiée par DE BERSAQUES au niveau de l'épiderme humain et elle est égale à $6,3 \mu\text{mol/min/g}$ de poids sec (23). Cette valeur est supérieure à celle rapportée par MIER et COLL. (209) dans l'épiderme du cobaye alors que ROELFZEMA et COLL. trouvaient une activité arylamidase à 290 nmol/min/g de poids frais (269).

L'activité peptidasique de la peau totale a été passée en revue par HOPSU-HAVU et JANSEN, mais l'interprétation des données de la littérature est rendue difficile par le problème de classification que pose ce groupe d'enzymes (140).

Les protéinases rompent les liaisons peptidiques à l'intérieur de grosses molécules protéiques pour les réduire à l'état de polypeptides. Ce sont des endopeptidases alors que celles qui scindent les liaisons aux extrémités des chaînes protéiques sont des exopeptidases.

Les représentants les plus étudiés de ce groupe sont la trypsine et la chymotrypsine.

Des activités protéasiques avaient été déjà décelées au niveau de la peau (19-96-229). En 1956, un travail de WELLS et Coll. démontrait la présence d'une importante activité protéasique épidermique (335).

Plus récemment, MIER et VAN DEN HURK (209) ont étudié dans l'épiderme du cobaye les cathepsines B1, C et D ; la cathepsine E n'ayant pas été détectée.

d) Les nucléases acides

Dès 1957, les nucléases acides ont été mises en évidence dans les tissus (69-70) puis quantifiées par SANTOIANI et ROTHMAN (278). Par la suite, JARRETT a utilisé les méthodes décrites par ARONSON (10) et VORBRODT (315) pour étudier ces enzymes dans la peau humaine.

Dans ce travail, JARRETT (161) a révélé la présence de ribonucléases et de désoxyribonucléases dans les cellules épidermiques. Il démontrait qu'une faible variation de pH modifiait la révélation de ces activités enzymatiques. Mises en évidence entre pH 5,4 et 5,9, les ribonucléases et désoxyribonucléases montraient une activité maximale dans les noyaux des cellules de la couche basale. Les réactions étaient également positives dans le derme, mais d'une intensité moindre. Seule la ribonucléase présentait une activité dans la couche granuleuse.

Ce même auteur a démontré l'existence de ces enzymes dans les fibres élastiques ainsi d'ailleurs que celle d'autres hydrolases acides (162).

Plus récemment, MELBYE et FREEDBERG ont d'abord étudié les ribonucléases au niveau de l'épiderme du cobaye (197-198) puis de l'homme (199). Les ribonucléases de l'épiderme humain existent sous plus d'une forme : huit fractions ont été déterminées, présentant des poids moléculaires identiques, de l'ordre de 15.000 daltons.

Ces ribonucléases paraissent différentes de celles observées dans l'épiderme du cobaye (9 enzymes ont été séparées dont le poids moléculaire varie de 10.000 à 37.000 daltons) et dans d'autres tissus (7-17-229). Elles ressemblent par leur poids moléculaire et leur activation par la spermidine à celles du foie et de la rate, mais diffèrent par leur pH. Sept des fractions de la ribonucléase de l'épiderme humain ont une activité optimale à pH alcalin et une à pH acide.

3 - La phosphatase alcaline

Elle a été étudiée depuis de nombreuses années déjà au niveau de la peau. Parmi les travaux les plus importants, on retrouve ceux de PIRILA et ERANKO (250), de FISHER et GLICK (84) et de KOPF (175).

L'activité phosphatase alcaline est présente au niveau de la couche granuleuse, faible dans les cellules de la couche basale (155-335). Par contre, les vaisseaux papillaires montrent une très forte activité phosphatasique alcaline. Cette enzyme est également présente dans les glandes sébacées et sudorales ainsi que dans le derme.

JARRETT et Coll. (159) ont étudié une phosphatase alcaline de la couche granuleuse de l'épiderme capable d'utiliser la lécithine comme substrat et qui intervient dans la dégradation des phospholipides de la couche granuleuse lors du processus de kératinisation. Cette enzyme a un pH d'activité optimal différent de celui des phosphatases alcalines des vaisseaux épidermiques.

B - LE DERME

1 - Les enzymes des cellules du derme

Différentes cellules dermiques sont présentes dans la peau normale: monocytes, polynucléaires, histiocytes, fibroblastes et lymphocytes.

L'histochimie de ce large éventail de cellules n'est pas complètement élucidée, mais on sait que les cellules phagocytaires contiennent des enzymes hydrolytiques telles que la phosphatase acide ainsi que des estérases non spécifiques (336). La plupart d'entre elles révèlent une activité ATPase qui est liée à leur motilité. Les mastocytes, en plus de l'activité ATPase, présentent une activité enzymatique très étendue comprenant la chymase mastocytaire, la tryptase mastocytaire, des estérases, de la bêta-glucuronidase, de la phosphatase acide, de la lysolécithine, de la monoamine-oxydase et de la diaphorase (284).

Les fibroblastes produisent les fibres élastiques et le collagène : elles ont une activité ATPase, mais elles contiennent aussi une série d'enzymes qui leur permettent d'assurer leurs fonctions spécialisées.

2 - Les enzymes des vaisseaux sanguins

On sait depuis longtemps que les cellules endothéliales des vaisseaux donnent une réaction très fortement positive à la phosphatase alcaline. Cette réaction enzymatique a d'ailleurs été utilisée pour révéler la présence de vaisseaux sanguins dans la peau.

Plus récemment, il a été démontré que ces cellules vasculaires donnaient aussi une réaction ATPase positive. Cette ATPase est probablement plus en rapport avec un transfert ionique qu'avec la motilité. En utilisant des techniques au fluorochrome, on a pu démontrer que cette activité enzymatique se situe principalement dans la région des membranes cellulaires.

3 - Les enzymes du tissu conjonctif

JARRETT et HARDY (162) ont démontré que le tissu élastique contenait un certain nombre d'enzymes hydrolytiques, spécialement des ribonucléases et désoxyribonucléases acides.

D'autres hydrolases sont présentes : phosphatase acide, estérases non spécifiques, sulfatase, bêta-galactosidase, N-acétylglucosaminidase. Une telle activité enzymatique n'a pas été détectée dans le collagène. Ces enzymes doivent être en rapport avec le renouvellement des fibres élastiques et aussi peut être du collagène pendant le "turn over" normal de ces tissus.

II - L'HISTOCHIMIE DU PSORIASIS

Le psoriasis est vraisemblablement une des affections dermatologiques dont l'enzymologie est la plus étudiée. Le nombre important d'ouvrages publiés sur ce sujet en est une preuve. Les travaux à venir permettront peut être d'élucider la pathogénèse de cette dermatose dont bien des points restent encore obscurs. De nombreuses hypothèses ont été jusqu'à maintenant émises (107-117-147-289).

Les travaux sur l'acanthose (292) et la parakératose (34, 291-294) ont permis de mieux étudier le psoriasis dont un des ouvrages les plus importants a été celui de BRAUN-FALCO (35).

Il est connu depuis longtemps que l'épiderme psoriasique a une bien plus grande activité enzymatique que l'épiderme normal, mais ceci n'est pas caractéristique de cette affection. C'est l'expression d'une hyperplasie épidermique et cette hyperactivité enzymatique se rencontre dans toute circonstance où existe un "turn over" épidermique accru.

Dans la peau normale, le temps de transit d'un kératinocyte, de sa naissance dans l'assise basale jusqu'à sa mort dans le stratum corneum est de l'ordre de 27 j.

Ce temps de transit est très raccourci en plaque psoriasique, 3 à 4 jours selon ROTHBERG (271), WEINSTEIN et VAN SCOTT (331).

Cet accroissement de l'activité métabolique et proliférative de l'épiderme psoriasique a été démontré par de nombreuses méthodes : le décompte des cellules marquées à la thymidine tritiée (332) ; l'incubation de la peau "in vitro" en présence de ce même marqueur (237) ; le décompte des noyaux bloqués en métaphase après application au niveau des lésions de Colcemid (83) ; la diminution du temps de passage des cellules épidermiques de la membrane basale à la couche cornée après injection d'acides aminés tritiés (256).

Plusieurs autres travaux plus récents ont porté sur les mitoses et le cycle cellulaire dans l'épiderme psoriasique, sur l'activité épidermique en général des lésions psoriasiques et de la peau apparemment saine de psoriasis.

Le nombre de mitoses et l'index de marquage (nombre de cellules marquées, par exemple par la thymidine au sein d'un tissu) de l'épiderme varie au cours du nycthémère. Cette constatation est identique à celle observée dans les épithélia d'origine animale (281). Cet index de marquage peut varier également en fonction de la topographie cutanée. Ainsi, des index plus élevés ont été mesurés au niveau de la paume de la main et du visage (176).

Dans un travail récent, ROWE et Coll. ont étudié le nombre de mitoses dans l'épiderme psoriasique au cours de la journée (275). Le décompte matinal des mitoses de l'épiderme apparemment normal de psoriasis n'est pas significativement différent de celui de l'épiderme sain. Par contre, dans l'après-midi, le nombre de mitoses est plus élevé dans les deux cas et significativement plus important dans l'épiderme apparemment sain de psoriasis que dans l'épiderme normal.

Le cycle cellulaire de l'épiderme sain et psoriasique a été très récemment étudié par HEENEN et Coll. (130). Dans le psoriasis, le nombre total de cellules qui participent à la prolifération cellulaire a considérablement augmenté ; on peut compter de trois à quatre couches de cellules germinatives et de nombreuses cellules marquées à la thymidine tritiée y sont observées (333). Si l'ensemble des travaux montre une augmentation de l'index de marquage (73-113-259-332), les chiffres publiés sont d'une grande disparité.

En reprenant les différents résultats, on peut établir un index de marquage moyen de 11,7 pour la lésion psoriasique alors qu'il n'est que de 4 pour l'épiderme normal.

MARKS a comparé l'incorporation de la thymidine, de la proline et de l'histidine dans les cellules épidermiques du psoriasis et de la peau apparemment saine de psoriasis par rapport à la peau normale (196). L'incorporation de ces trois éléments est très augmentée dans la plaque psoriasique. Ceci traduit l'hyperactivité anabolique, conséquence de l'accentuation du taux de prolifération cellulaire. L'incorporation de l'histidine est tout particulièrement associée à l'activité des cellules de la couche granuleuse mais n'est pas limitée à cette

zone (98). La peau apparemment saine de psoriasis montre également un taux d'incorporation très important de la thymidine.

Au cours des dernières années, il est devenu évident que la peau apparemment saine de psoriasis est différente de la peau saine. Ce fait a été suggéré par WEDELL et Coll. (330). Cette différence avait également été montrée après application locale de vitamine A par REID et JARRETT (266).

Depuis, de nombreux auteurs se sont penchés sur cet épiderme apparemment normal de psoriasis. C'est peut être à ce niveau que se trouve la clé de l'histogénèse de cette affection dermatologique.

C'est pour cette raison que nous étudierons successivement la lésion et la peau apparemment saine de psoriasis.

A - LA LÉSION PSORIASIQUE

1 - Les enzymes du métabolisme carbohydrique

Le métabolisme carbohydrique dans la peau psoriasique a été étudié par HALPRIN et OHKAWARA (119-238). Ils ont analysé de nombreuses enzymes engagées dans les voies de la glycolyse. Ils concluaient que la réorganisation du métabolisme cellulaire nécessaire au maintien des taux élevés de prolifération cellulaire ne se produisait pas en augmentant l'activité de quelques niveaux enzymatiques, mais en augmentant chacune des enzymes responsables de l'ensemble des réactions. Outre l'hyperactivité globale du métabolisme des hydrates de carbone, ils constataient plus précisément un accroissement de l'activité enzymatique de la voie des pentoses, conduisant à une production accrue de NADPH₂ nécessaire à la biosynthèse réductrice. Il est d'ailleurs intéressant de noter que cette déviation du métabolisme du glucose vers le shunt des pentoses se retrouve au niveau sérique (140-177-178).

a) Les enzymes de la voie d'EMBDEN MEYERHOF

1. L'hexokinase, la glucose-6-phosphatase, la phosphoglucomutase

HALPRIN et OHKAWARA ont montré que l'activité de l'hexokinase était augmentée de 40% dans la plaque psoriasique (119). De plus, la concentration en ADP diminuait à l'inverse de celle de l'ATP. Ces variations en substrat résulteraient d'une plus grande utilisation du glucose comme l'indique la variation même de l'activité enzymatique, puisque l'ADP est un inhibiteur potentiel de l'hexokinase alors que l'ATP est l'un de ses substrats (121).

L'accentuation de la consommation de glucose dans la lésion psoriasique a également été démontrée par HERDENSTAM (132).

Un autre point étudié par HALPRIN et OHKAWARA est l'utilisation du glucose-6-phosphate formé par l'hexokinase (119). Dans le cas du psoriasis, le glucose-6-phosphate est immédiatement utilisé et non stocké. Il existe une compétition entre la phosphoglucoisomérase, la phosphoglucomutase, la glucose-6-phosphate déshydrogénase et probablement la glucose-6-phosphatase dans l'utilisation du glucose-6-phosphate. FRIENKEL a relevé que dans l'épiderme normal, environ 80% du glucose-6-phosphate était converti en fructose-6-phosphate (voir Tableau n°1) et 5% en 6-phosphogluconate (94). 5% est probablement converti en glucose-1-phosphate alors qu'environ 10% est retransformé en glucose par l'action de la glucose-6-phosphatase (120).

Dans le psoriasis, l'activité de la glucose-6-phosphate déshydrogénase qui transforme le glucose-6-phosphate en 6-phosphogluconate, triple. Par contre, l'enzyme qui forme le glucose-1-phosphate augmente de façon beaucoup moins importante.

2. L'uridine diphosphoglucose déshydrogénase

Quantitativement, cette enzyme s'accroît environ de 50% dans le psoriasis alors que son activité est relativement faible dans l'épiderme sain. Ceci implique une production (97) augmentée de mucopolysaccharides dans l'épiderme psoriasique comme l'ont démontré BRAUN-FALCO (35), FLEISCHMAJER et Coll. (86) ; ainsi que dans les squames (88) et le derme superficiel (87).

3. La phosphoglucoisomérase, la phosphofructokinase, l'aldolase

La phosphoglucoisomérase augmente de 45% dans la plaque psoriasique. L'activité de cette enzyme est environ dix fois supérieure à celle des autres enzymes entrant en compétition dans l'utilisation du glucose-6-phosphate. Les augmentations quantitatives des autres enzymes utilisant le glucose-6-phosphate sont, cependant, plus importantes que celle de la phosphoglucoisomérase.

Dans le psoriasis, l'activité de la phosphofructokinase augmente de 124% par rapport à la peau saine. Puisque la phosphoglucoisomérase, qui forme le fructose-6-phosphate à partir du glucose-6-phosphate, n'est augmentée que de 45%, HALPRIN et OHKAWARA pensent que du fructose-6-phosphate est produit par d'autres voies (119). Entre autre, toujours à partir du glucose-6-phosphate mais après qu'il soit transformé dans le shunt des pentoses, ce qui implique une plus grande quantité de glycéraldéhyde-3-phosphate. Ceci est démontré par le fait que l'activité de l'aldolase est accrue de 240% dans le psoriasis. Cette augmentation avait déjà été mise en évidence par COMAISH (59)

4. La glycéraldéhyde-3-phosphate déshydrogénase, l'énolase, la pyruvate kinase

Les enzymes transformant le glycéraldéhyde-3-phosphate en phosphoénolpyruvate sont modérément augmentées, en concordance avec l'accroissement global de l'utilisation du glucose. La glycéraldéhyde-3-phosphate déshydrogénase s'accroît cependant dans la plaque psoriasique, surtout au niveau de la partie la plus basse de l'épiderme et l'on pense que ceci est en rapport avec la formation des lipoprotéines nécessaires aux membranes des mitochondries qui sont présentes en plus grande quantité que dans l'épiderme normal (166).

La formation du pyruvate à partir du phosphoénolpyruvate par la pyruvate kinase est modérément augmentée. Cependant, l'accroissement important de l'utilisation du pyruvate par la

lactate déshydrogénase contraste avec la faible augmentation du pyruvate. De plus, la formation d'acétate à partir du pyruvate est probablement accrue dans la lésion psoriasique, puisque HERDENSTAM (133) a montré que la synthèse d'acides gras et de stérols était six fois supérieure à celle de la peau normale. Ces considérations laissaient penser à HALPRIN et OHKAWANA que l'accroissement de la pyruvate kinase était insuffisant pour subvenir aux besoins de toutes les réactions utilisant le pyruvate (119).

5. La lactate deshydrogénase

L'augmentation de l'activité lactate déshydrogénase dans l'épiderme psoriasique a été démontré par des méthodes biochimiques (327).

Un travail histochimique de JONES et Coll. a révélé une diminution de l'activité lactate deshydrogénase dans les couches moyenne et superficielle de l'épiderme psoriasique (168) alors que celle des couches profondes, basale en particulier était augmentée. D'autres travaux montraient une forte activité dans ces mêmes zones superficielles autant que dans les couches inférieures des zones acanthosiques (83-127).

b) Les enzymes du cycle de KREBS

Les enzymes de ce cycle sont augmentées, entre autre la malate et la succino déshydrogénase. L'accroissement de l'activité de cette dernière avait déjà été mise en évidence par BRAUN-FALCO (30,35) bien que celui-ci n'avait pas été démontré dans la couche cornée parakératosique, à l'inverse des travaux de SERRI (285). BRAUN-FALCO trouvait une réaction maximale dans les cellules de la couche basale et elle décroît progressivement pour être nulle à la surface. Cette localisation est en accord avec les travaux de JONES et Coll. (168).

En ce qui concerne l'Isocitrate déshydrogénase, HALPRIN et OHKAWARA (119) n'ont pas trouvé d'augmentation significative bien que cette enzyme soit une des réactions clefs de ce cycle. Les réactions mitochondriales responsables de la phosphorylation oxydative fournissent les cellules épidermiques en ATP et ces réactions entraînent une augmentation des besoins tissulaires en oxygène. Cette notion a été révélée par plusieurs auteurs (102-132). Il est donc difficile, d'après HALPRIN et OHKAWARA, d'expliquer comment cet accroissement en oxygène peut survenir en l'absence de modification d'isocitrate déshydrogénase. D'après JARRETT, ces résultats divergents sont encore sans explication (166).

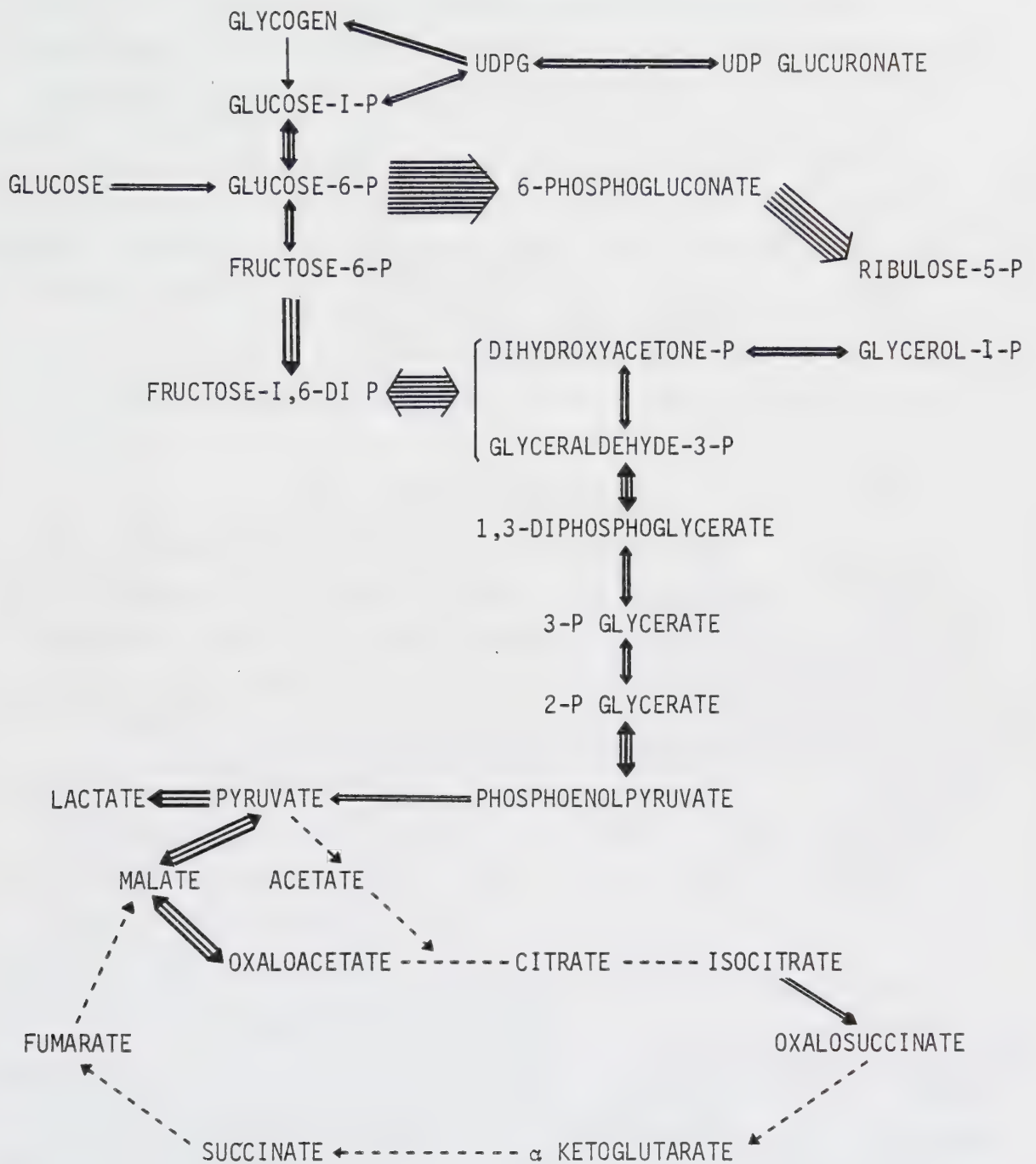
c) Les enzymes du shunt des hexoses monophosphate

Tous les travaux histochimiques concluent à une très forte augmentation de la glucose-6-phosphate déshydrogénase et de la 6-phosphogluconate déshydrogénase dans la plaque psoriasique (35-119-123-168), de même par des méthodes biochimiques (266-267).

Cette augmentation d'activité s'observe au niveau des cellules superficielles de la couche de Malpighi, dans la couche granuleuse et dans la partie supérieure de la couche parakératosique.

Il est intéressant de noter que WEBER avait trouvé une augmentation de la glucose-6-phosphate déshydrogénase dans le sérum des patients atteints de psoriasis (326), mais des données plus récentes demeurent contradictoires quant aux activités sériques de cette enzyme (116-173).

Au décours de leurs travaux, aussi bien JONES et COLL. (168) que HALPRIN et OHKAWARA (119) n'avaient relevé de différences notables entre la peau normale et la peau apparemment saine de psoriasis. Nous verrons, dans le paragraphe qui lui sera consacrée, ce qu'il en est exactement.



TABEAU 4 : ACCROISSEMENT D'ACTIVITE DES ENZYMES DU METABOLISME CARBOHYDRIQUE (LA LARGEUR DES FLECHES EST PROPORTIONNELLE A L'AUGMENTATION D'ACTIVITE)
d'après HALPRIN et OHKAWARA

En conclusion, cette hyperactivité du métabolisme des hydrates de carbone touche non pas une à deux activités enzymatiques clefs, mais la presque totalité des enzymes impliquées dans les différentes voies métaboliques

Le tableau 4 d'après HALPRIN et OHKAWARA regroupe les trois voies du métabolisme carbohydrique et leurs principales enzymes. La largeur des flèches est proportionnelle à l'augmentation de chaque activité. Nous constatons aisément sur ce schéma, l'importante déviation du métabolisme carbohydrique vers le shunt des pentoses, comme nous le soulignons au début de ce chapitre.

2 - Les hydrolases acides

Tous les auteurs ont constaté une augmentation des réactions hydrolases acides dans l'épiderme et dans la couche kératinisée de la plaque psoriasique par rapport à la peau normale. Ainsi, pour n'en citer que quelques unes, les phosphatases acides, les arylsulphatases, les estérases non spécifiques, la bêta-glucuronidase et la β -galactosidase ont leur activité accrue.

Il est à noter que l'intensité des réactions varie d'une partie du corps à l'autre. Ceci fait que la quantification est variable en fonction du site choisi, ce qui explique en partie les variations quantitatives notées d'une expérimentation à l'autre.

Cependant, les réactions sont uniformément accrues dans la kératine parakératosique et la plupart des auteurs s'accordent à penser que ceci est lié à la présence de lysosomes non rompus qui du fait d'un "turn over" augmenté, arrivent intacts à la couche cornée.

Cette notion est confirmée par les travaux de microscopie électronique d'HASHIMOTO et LEVER qui observent une augmentation du nombre de granules dans la kératine psoriasique (129).

Cet accroissement des hydrolases acides peut s'expliquer de deux façons, la prédominance de l'une par rapport à l'autre n'étant pas encore établie :

- MIER et VAN DEN HURK estiment que cela est du à une augmentation du nombre de lysosomes dans l'épiderme psoriasique (213).

- Par contre JARRETT pense plutôt qu'il s'agit d'une altération de la membrane lysosomale, expliquant ainsi la plus grande libération d'hydrolases acides (167).

a) Phosphatase acide

L'hyperactivité de cette enzyme dans le psoriasis avait déjà été mise en évidence par BRAUN-FALCO (35). Elle est particulièrement importante dans toute la couche cornée parakératosique (290).

Dans un travail récent, MIER et VAN DEN HURK ont noté dans cette affection une activité à 2200 nmol/min/g de poids frais (212). Il s'agit de l'activité hydrolase acide la plus importante. En comparaison, celle de l'épiderme normal est à 880.

L'activité phosphatase acide a également été quantifiée au niveau des squames psoriasiques (90-91) et celle-ci est de l'ordre de 4300 nmol/min/g de poids frais (269). Ce chiffre particulièrement élevé peut s'expliquer de deux manières : une synthèse augmentée dans les couches basales, associée à une moindre inactivation au cours du processus de kératinisation.

b) Les sulfatases

Les arylsulfatases A et B sont avec la β -glucosidase celles dont l'augmentation est la plus importante et la plus sensible dans la plaque psoriasique chronique (213). Leurs valeurs sont respectivement 34 et 22 fois supérieures à ce que l'on observe dans l'épiderme sain. Leur dosage, dans la peau apparemment normale de psoriasis, est sensiblement identique à celui de la peau saine.

c) Les estérases, lipases

L'augmentation de leur concentration avait été mise en évidence par BRAUN-FALCO (35), en particulier dans les couches supérieures des digitations épidermiques, correspondant à une prolifération acanthosique. De même, on observait une hyperactivité dans toute l'épaisseur de la couche cornée parakératosique (33-293).

d) L'adényl cyclase et la phosphodiesterase

Il est maintenant bien connu que l'adénosine 3'5'-cyclic monophosphate (cAMP) et la guanosine 3'5'-monophosphate (cGMP) contrôlent la différenciation et la prolifération cellulaire (54), ce qui avait été suggéré par IVERSON (153). On observe dans le psoriasis une dissociation dans la concentration cellulaire de ces deux nucléotides, avec la diminution du cAMP et l'augmentation du cGMP (313). Le cAMP, synthétisé à partir de l'adénosine triphosphate (ATP) par l'adényl cyclase, est transformé en adénosine 5'-monophosphate (5'-AMP) par la phosphodiesterase. En d'autres termes, la concentration intra-cellulaire en cAMP dépend des concentrations relatives de ces enzymes.

L'adényl cyclase a été étudiée depuis quelques années par de nombreux auteurs (143-144-343). MUI et Coll. ont confirmé dans un travail plus récent leurs conclusions antérieures (224) : l'activité de l'adényl cyclase est significativement plus basse dans la plaque psoriasique que dans l'épiderme apparemment normal de psoriasis ou dans la peau saine. L'activité de cette enzyme dans ces deux derniers types de prélèvements est la même. D'autre part, la plaque psoriasique incorpore moins d'adénine au niveau de l'ATP, et la transformation de celle-ci en cAMP est moindre que ce qui est observé dans la peau saine. Cette baisse de l'adényl cyclase a été confirmée sous microscopie électronique : la réponse de l'enzyme après stimulation aux catécholamines et au glucagon est beaucoup plus basse dans le psoriasis que dans l'épiderme sain (192).

MUI et Coll. (224) concluaient en disant qu'il semble exister une relation de cause à effet entre l'atteinte du système adényl cyclase et l'augmentation du "turn over" dans le psoriasis.

Ceci semble actuellement évident, mais tout le problème reste de savoir s'il s'agit des résultats ou de la cause de la maladie.

Le cAMP, transformé en 5'-AMP par la phosphodiétérase, a été étudié par plusieurs auteurs (126-148-193-313) dont les résultats quant à son activité dans le psoriasis sont discordants.

Ceci peut s'expliquer par le fait qu'il existe plusieurs isoenzymes de la phosphodiétérase (223) et que leur affinité pour le cAMP est variable, ce qui a été démontré chez la souris albinos (207).

Cependant, la plupart des auteurs s'accordent maintenant à penser qu'il n'y a pas de différence d'activité entre la lésion psoriasique et la peau saine (193-313).

L'activité des phosphodiésterases a été localisée chez l'homme dans les cellules, en particulier au niveau des cytomembranes du réticulum endoplasmique et non à la surface des cellules comme l'avaient montré KING et COLL. chez le rat (172).

Une autre AMP cyclique a été tout récemment étudiée dans le psoriasis, l'adénosine 2'3'-cyclic monophosphate et tout particulièrement l'enzyme qui la catabolise, la 2',3'-cyclic AMP 3'-phosphohydrolase (206). Présente dans la peau, cette enzyme est plus active dans l'épiderme psoriasique que dans la peau saine. Bien que le nombre d'échantillons soit restreint, MEZEI et HOWELL ont noté que son activité était plus importante dans la peau apparemment saine de psoriasis que dans celle des témoins (206).

Cette enzyme, qui est un des composants de la myéline du système nerveux (205-317), pourrait jouer un rôle dans la maturation et dans la prolifération cellulaire.

Bien que la physiopathologie du psoriasis ne soit pas entièrement résolue, nombreux sont les auteurs qui estiment que le système de l'AMP cyclique interviendrait d'une manière prépondérante dans la pathogénèse de cette affection (11-182-314).

e) Les glycosidases

Les sept glycosidases analysées par MIER et VAN DEN HURK dans le psoriasis sont augmentées.

Il s'agit de l'alpha et de la bêta-glucosidase, de l'alpha et de la bêta-galactosidase, de l'alpha mannosidase, de la N-acétyl- β D-glucosaminidase et de la β -glucuronidase (213).

Cet accroissement d'activité varie d'une enzyme à l'autre et est maximal pour la β -glucosidase qui est onze fois plus active dans le psoriasis que dans la peau saine témoin. Par contre, son activité au niveau des squames psoriasiques reste modérée, souvent inférieure à celle des autres glycosidases (269).

A l'inverse, l'augmentation de l' α -galactosidase, de l' α -mannoside et de la N-acetylglucosaminidase reste modérée, inférieure au double de la valeur constatée dans la peau saine.

Nous regroupons dans le tableau 5 les résultats relevés par MIER et VAN DEN HURK (212) dans la peau témoin, la lésion psoriasique et la peau apparemment saine de psoriasis, ainsi que ceux observés par ROELFZEMA et Coll. (269) dans les squames.

f) Les nucléases acides

Une des premières constatations sur l'augmentation des ribonucléases dans le psoriasis, affection caractérisée par des anomalies majeures de l'acide nucléique et du métabolisme protéique, a été faite par LISS et LEVER (182).

Une étude récente de MELBYE et Coll. confirme cette première constatation (199). L'activité ribonucléase est beaucoup plus importante dans les squames psoriasiques que dans l'épiderme normal. Cette activité, mesurée par gramme de tissu, est environ cinq fois supérieure dans les squames. Il est à noter que les extraits psoriasiques sont inhibés par la spermidine, à l'inverse de ceux de la peau saine, grandement stimulés. Puisque la spermidine et la spermine sont à des taux plus élevés dans la lésion psoriasique (257), les ribonucléases psoriasiques sont déjà au maximum de stimulation.

Il en est de même de la désoxyribonucléase dont l'activité s'accroît dans cette affection (92).

ENZYMES	α -glu	β -glu	α -gal	β -gal	α -man	β -NAG	β -gln	AP	sf-A	sf-B	Cat.B _I	Cat.C	Cat.D	Aram
TEMOINS	11	1,7	10	42	28	130	50	880	0,51	0,46	4,9	51	1,9	300
PSORIASIS	21	14	16	58	37	170	83	2200	16	9,4	6,3	120	6,3	910
PEAU APPAREMMENT SAINE DE PSORIASIS	11	1,5	11	39	26	100	50	900	0,42	0,48	5,0	50	1,9	300
SQUAMES PSO	6,7	7,5	7,1	32	26	170	38	4300	5,0	3,2	3,1	8,9	5,3	110

TABLEAU 5 : ACTIVITES DE CERTAINES HYDROLASES ACIDES DANS LE PSORIASIS, LA PEAU APPAREMMENT SAINE DE PSORIASIS ET LES SQUAMES (exprimées en nmol/min/g de poids frais)
d'après MIER et VAN DEN HURK (284)

glu : glucosidase; gal : galactosidase ; man : mannosidase ; NAG : N-acétylglucosaminidase ;
AP : phosphatase acide; sf : sulfatase ; cat : cathepsine; aram : arylamidase

B - LA PEAU APPAREMMENT SAIN DE PSORIASIS

Un certain nombre de différences entre la peau normale témoin et la peau apparemment saine de psoriasis ont été mis en évidence. Si ces observations sont liées à la morphologie de l'épiderme et à ses composants, peu nombreux sont les auteurs ayant révélé des variations d'activités enzymatiques. Cependant, certains d'entre eux ont noté une hyperactivité enzymatique dans la peau apparemment saine de psoriasis par rapport au témoin, surtout en ce qui concerne la phosphatase acide comme nous le verrons ultérieurement.

Dès 1941, MADDEN trouvait une contenance lipidique accrue et la présence de leucocytes migrants dans l'épiderme de la peau apparemment saine (188).

En 1965, WEDDELL et Coll. ont montré une augmentation du nombre des terminaisons nerveuses dans la peau "normale" de psoriasis, associée à un plus grand nombre de cellules de Schwann (330). Ils suggéraient également que l'infiltrat cellulaire de la plaque psoriasique n'était pas exclusivement composé de cellules inflammatoires, comme on le pense habituellement, mais de cellules de Schwann à tous les âges de développement et de dégénération. JARRETT estime que l'opinion de WEDDELL et Coll. est exacte ; certaines cellules dendritiques haut situées étant dérivées des cellules de Schwann et pouvant ainsi avoir une action sur la libération des hydrolases acides dans la couche granuleuse de la peau apparemment saine de psoriasis (166).

REID et JARRETT ont démontré que la peau apparemment saine de psoriasis était plus épaisse que la peau normale. Cette observation n'avait pas été mise en évidence par des méthodes classiques, mais après stimulation de l'activité proliférative de la peau (266).

MARKS a étudié récemment l'activité épidermique de la lésion et de la peau apparemment saine de psoriasis (196). Il faut préciser que la méthode utilisée permet l'analyse de l'incorporation "in vitro" de la thymidine, de la proline et de l'histidine (195). Il conclut que la peau apparemment saine de psoriasis montre une augmentation importante (48%) de l'incorporation de la thymidine, ce résultat

étant statistiquement valable. A l'inverse, celle de la proline est faiblement accrue, alors que l'incorporation de l'histidine est inférieure à celle observée dans la peau saine témoin.

D'autres auteurs ont observé des anomalies dans la prolifération cellulaire épidermique de la peau apparemment saine (26-259). Leurs prélèvements étaient cependant réalisés près des lésions, ce qui rend l'interprétation plus difficile.

Dans le même ordre d'idée, ROWE et COLL. (275) ont étudié le nombre de mitoses dans l'épiderme psoriasique. Ils ont constaté que celui-ci était supérieur dans l'épiderme apparemment sain de psoriasis, à celui de l'épiderme sain témoin.

En ce qui concerne les activités enzymatiques, les résultats sont plus controversés. JARRETT a dosé les phosphatases épidermiques dans différentes parties du corps. Tous les prélèvements analysés ont montré une activité phosphatase acide plus importante dans la peau apparemment saine (167). Ces biopsies cutanées avaient été effectuées aux mêmes endroits que celles des témoins sains.

Ce même auteur avait mis en évidence avec PLEASE que l'activité arylsulfatase était augmentée dans l'épiderme apparemment sain de psoriasis (164).

Cependant, si l'on reprend les travaux de MIER et VAN DEN HURK, nous constatons que la phosphatase alcaline et les arylsulfatases ont une activité sensiblement identique dans les deux types de prélèvements (212).

D'après JARRETT, les résultats qu'il obtient semblent indiquer qu'il y a, soit une augmentation des hydrolases acides dans l'épiderme psoriasique apparemment normal, soit que des changements dans les membranes lysosomales modifient la libération de leur contenu enzymatique. Il estime que cette dernière hypothèse est la plus probable.

En ce qui concerne les enzymes de métabolisme carbohydrate, tous les travaux effectués n'ont pu mettre en évidence de différences notables. Qu'ils s'agissent de ceux de HALPRIN et OHKAWARA (119) ou

de JONES et COLL. (168), l'activité des déshydrogénases est sensiblement la même dans la peau psoriasique apparemment saine et la peau normale témoin.

III - HISTOCHIMIE DU VITILIGO

Cette affection, qui se présente habituellement comme une leucodermie acquise, a été peu étudiée sur le plan enzymatique.

Qu'il s'agisse des hydrolases ou des déshydrogénases, nous n'avons pas trouvé de données de la littérature évoquant l'activité de ces enzymes dans l'épiderme leucodermique, en particulier celles que nous mettons en évidence dans ce travail.

Par contre, de nombreux travaux ont été effectués sur la synthèse de la mélanine.

Les activités suivantes ont été particulièrement analysées: la DOPA oxydase, les cholinestérases et la peroxydase. Nous ne les rapporterons pas ici, n'entrant pas dans la série des activités que nous étudions.

IV - HISTOCHIMIE DES NAEVI NAEVO-CELLULAIRES

Les activités enzymatiques des naevi naevo-cellulaires ont été peu analysées.

Un certain nombre d'études porte sur des sujets ayant présenté en un temps relativement court, une éruption naevique importante, disséminée à l'ensemble du tégument. C'est le cas des travaux de COSKEY (62) et plus récemment de EADY et Coll. (74).

Ces derniers rapportent l'activité de quelques enzymes dans des naevi naevo-cellulaires dermiques avec présence d'une activité jonctionnelle modérée dans certaines coupes. Voici leurs résultats :

- activité négative ; + faible ; ++ modérée ; +++ forte

ENZYMES	ACTIVITES DES CELLULES EPITHELIOIDES	AUTRES CONSTATATIONS
Dopa oxydase	++	Mélanocytes épidermiques +
Phosphatase alcaline	-	Anses capillaires ++
Phosphatase acide	++	
Estérases non spécifiques	++	
β -glucuronidase	++	Activité la plus forte présente dans les cellules jonctionnelles
ATPase	+	
Succino déshydrogénase	+++	
NADH diaphorase	+++	
G-6-PDH	+++	
Acétyl cholinestérase	-	Négative dans toutes les lésions

TABEAU 6 : D'après EADY et Coll. (74), 1977

Ils constatent qu'une activité DOPA oxydase modérée est présente dans les cellules épithélioïdes, la réaction devenant plus forte dans les thèques intradermiques les plus superficielles ou jonctionnelles. Cette activité est généralement plus prononcée que celle révélée par les mélanocytes épidermiques.

Par contre, les réactions acétyl cholinestérase et phosphatase alcaline sont négatives dans les cellules naeviques, mais l'activité de cette dernière est importante dans les vaisseaux sanguins, ce qui n'est pas étonnant.

Les autres réactions révèlent des activités modérées ou fortes dans les cellules épithélioïdes.

Ces auteurs concluaient que les analyses histochimiques et ultrastructurales des cellules naeviques présentaient les signes d'une activité métabolique importante (74). Les grandes cellules naeviques épithélioïdes montraient des activités enzymatiques respiratoires et hydrolytiques marquées, vraisemblablement plus importantes que celles observées dans des naevi cellulaires dermiques.

BRAUN-FALCO et PETZOLDT avaient effectué des travaux histochimiques de mesure d'activités enzymatiques sur 86 naevi cellulaires (37). L'exemple de la lactate déshydrogénase leur montre que d'une manière générale les cellules de naevi cellulaires se caractérisent par une forte réactivité. Les espèces variées de cellules naeviques, par contre, présentaient des différences marquées en ce qui concerne les réactions des enzymes de la glycolyse, du cycle de l'acide citrique et de la chaîne respiratoire.

Dans le cas des enzymes glycolytiques, BRAUN-FALCO et PETZOLDT se sont aperçus que les cellules naeviques de la zone jonctionnelle présentaient la plus forte réaction, tandis que les cellules naeviques fusiformes des couches profondes ne réagissaient que faiblement et celles, en nids ou en cordons, du derme supérieur et moyen se situaient entre les deux extrêmes au point de vue de leurs réactions histochimiques (37).

Les enzymes du cycle de l'acide citrique se comportaient par contre un peu différemment. L'activité enzymatique dans les cellules naeviques de la zone jonctionnelle était à peu près comparable

à celle des amas cellulaires en nids du derme supérieur, bien que légèrement supérieure.

PETZOLDT a publié ultérieurement l'ensemble de ces travaux (249).

Par la suite, PAUL et ILLIG ont confirmé le fait que l'activité de certaines enzymes semblait diminuer dans les cellules naeviques les plus profondes (247). Il est intéressant de noter que ces auteurs ont constaté que les cellules naeviques "géantes", observées dans quelques uns de leurs prélèvements, possédaient des activités déshydrogénases particulièrement marquées.

Il se dégage donc de ces différentes observations deux constatations :

- d'une part, que les cellules naeviques disposent d'un métabolisme énergétique élevé

- d'autre part, que les réactions enzymatiques des naevinaevo-cellulaires à activité jonctionnelle sont plus importantes que celles des naevi sans activité jonctionnelle ou plus profondément situés.

V - HISTOCHIMIE DU MELANOME MALIN

Les tumeurs malignes sont habituellement caractérisées par de nombreuses altérations métaboliques ; l'accélération de la voie de la glycolyse et l'inhibition des fonctions tissulaires spécifiques sont des traits communs (337). Le mélanome peut être considéré comme l'une des tumeurs les plus malignes de par sa capacité à induire des métastases et son taux de croissance élevé.

Plusieurs études enzymatiques ont été réalisées sur des animaux de laboratoire, souris et hamster en particulier (4-6-72), mais on ne retrouve que peu de données sur le mélanome humain. Les premiers résultats de CERIMELE et Coll. chez l'homme, suggéraient un accroissement de l'activité de plusieurs enzymes (51).

Nous rapporterons dans un premier temps les données observées pour certaines hydrolases ; puis celles de quelques enzymes clefs du métabolisme carbohydrique.

A - LES HYDROLASES

Le rôle des enzymes lysosomales dans la croissance et la diffusion du cancer est encore mal défini.

BOSMANN et Coll. (27), POOLE (255) ont suggéré l'existence d'une étroite corrélation entre l'activité des enzymes lysosomales et l'invasion de cellules tumorales. On pense également qu'une forte activité des hydrolases lysosomales est essentielle à la régression spontanée des néoplasmes. Les travaux de VON ARDENNE (9), GULLINO et LANZEROTTI (118), KAMPSCHMIDT et WELLS (171) confirment cette hypothèse.

Ces auteurs ont observé une plus grande activité des enzymes lysosomales dans les tumeurs en régression que dans les tumeurs avant régression.

De même, SCHAMBERGER a constaté que la concentration en enzymes lysosomales augmentait dans les tumeurs mammaires régressives (280).

MISHIMA et ITO ont supposé que l'importante activité des hydrolases lysosomales dans le mélanome était responsable de la formation de foyers de nécrose dans cette même tumeur (214). Mais il est probable qu'interviennent d'autres facteurs dont des modifications vasculaires locales (349).

SEIJI et OTAKI ont comparé la croissance tumorale (mélanome B₁₆ de souris) à l'activité des enzymes lysosomales (283). L'activité de la cathepsine, par poids sec de tissu, décroît à la phase finale de la croissance tumorale, au bout de 29 jours. Il en est de même de la β -glucuronidase et de la succino déshydrogénase.

A l'inverse l'activité phosphatase acide augmente puis demeure inchangée lors de la croissance tumorale.

Les activités arylsulfatase, β -glucuronidase, cathepsine D et phosphatase acide s'accroissent de manière importante dans le mélanome malin. L'augmentation la plus forte a été observée pour l'activité arylsulfatase (72).

VAQUERO et Coll. ont étudié l'activité β -glucuronidase dans le mélanome B₁₆ de souris en la comparant à la tumeur maligne non pigmentaire sous cutanée d'Ehrlich, qui présente la même évolution que celle du mélanome B₁₆, en tuant l'animal en un mois environ (308). Si le mélanome B₁₆ et la tumeur d'Ehrlich de la souris présentent une activité accrue de la β -glucuronidase par rapport à la peau, il n'existe pas de différence significative entre les deux tumeurs. Ces auteurs en déduisent que cette activité enzymatique ne serait donc pas liée au caractère mélanocytaire de mélanome B₁₆. D'autre part, ils constatent après nécrose, une nette augmentation de l'activité enzymatique pour chaque type de tumeur.

JARRETT et RILEY ont montré que les cellules naeviques et les mélanomes malins humains étaient fortement positifs en activités estérasiques (157).

La γ -glutamyltranspeptidase (γ -GT) a été étudiée par DE YOUNG et Coll. dans la peau saine et néoplasique de la souris (71). Ils constatent que cette enzyme est exclusivement localisée dans la partie épithéliale la plus basse des follicules pileux. Présente à un taux élevé dans les carcinomes malins, elle est absente dans la peau saine et les papillomes bénins. DE YOUNG et Coll. estiment cependant que la γ -GT ne peut être considérée comme "marqueur" d'une néoplasie cutanée, rôle qu'elle détient déjà dans toute formation hépatique maligne (82-170-302).

Le rôle fonctionnel de cette enzyme est encore mal connu. ORLOWSKY et MEISTER supposent qu'elle joue un rôle important dans le transport des amino-acides dans les cellules (243).

Quoiqu'il en soit, son augmentation d'activité est importante dans les carcinomes malins.

B - LES ENZYMES DU METABOLISME CARBOHYDRIQUE

CERIMELE et Coll. ont rapporté l'activité de 14 enzymes de 10 mélanomes malins humains et de lésions (naevi et lentigo) à partir desquelles s'étaient développés les mélanomes (52).

Ces auteurs ont analysé 6 enzymes de la voie de la glycolyse, 3 du cycle tricarboxylique de Krebs, 2 du cycle des pentoses phosphates, 2 du métabolisme des amino acides et une du métabolisme des acides gras.

Nous ne pouvons mieux faire que de rapporter leurs résultats, regroupés dans le Tableau 7, et exprimés en Mol/h/kg de poids sec.

ENZYMES	NORMALE	PREMELANOME	MELANOME
Hexokinase	0,48	0,60	0,91
Phosphofructokinase	0,69	1,04	2,38
α -Glycérophosphate déshydrogénase	0,17	0,27	0,52
Glycéraldéhyde-3-phosphate déshydrogénase	3,56	6,98	13,07
Enolase	8,62	12,67	22,44
Lactate déshydrogénase	19,89	37,76	58,45
Isocitrate déshydrogénase	1,25	1,38	2,21
Malate déshydrogénase	15,33	22,65	53,23
Enzyme malique	0,27	0,20	0,16
G-6PDH	0,79	0,91	1,93
6-PGDH	0,40	0,69	1,10
Alanine transaminase	0,76	0,48	0,44
Aspartate transaminase	1,72	2,88	5,04
β -Hydroxylacyle-déshydrogénase	1,15	1,69	2,76

TABEAU 7 : ACTIVITES ENZYMATIQUES DE LA PEAU NORMALE, DE LA LESION PREMELANIQUE ET MELANIQUE

(exprimées en Mol/h/kg de poids sec)
D'après CERIMELE et Coll. (52)

Nous constatons dans les lésions prémélaniques et mélaniques comparées à l'épiderme normal, une augmentation significative de la plupart des activités enzymatiques. On note deux exceptions : l'enzyme malique et l'alanine transaminase, qui décroissent progressivement de la peau saine au mélanome.

Ces résultats sont en rapport avec ceux obtenus par d'autres auteurs dont BRAUN-FALCO et Coll., ADACHI et Coll., dans le mélanome humain (39) et chez la souris (4).

Le fait que les enzymes de la voie de la glycolyse augmentent d'une manière importante dans le mélanome pourrait s'accorder

sans pouvoir l'affirmer, avec l'hypothèse que la cellule cancéreuse proviendrait d'une atteinte du métabolisme respiratoire (318). Dans une autre théorie, les altérations enzymatiques seraient secondaires à la cause initiale du processus malin (39).

DEUXIEME PARTIE

MATERIEL ET METHODE

LE MATERIEL

Le matériel prélevé dans le cadre de ce travail provient de plusieurs services de dermatologie dont la collaboration a permis la réalisation de ce travail.

Les prélèvements ont été effectués pour la plupart dans le service de dermatologie de l'hôpital d'instruction des armées LAVERAN à MARSEILLE, que dirige le Docteur ARNOUX.

Les biopsies de vitiligo et les pièces de mélanome nous ont été fournies par le Docteur ORTONNE (Service du Professeur THIVOLET) à LYON.

Certaines exérèses de naevi naevo-cellulaires ont été réalisées par le Docteur FOLLANA (Service du Professeur CALLAS) à MARSEILLE.

Nous évoquerons dans un premier temps le mode de prélèvement utilisé et le mode de conservation des pièces de biopsie. Nous terminerons ce chapitre par l'étude de l'échantillon témoin et celui de chacune des affections cutanées étudiées.

I - MODES DE PRELEVEMENT

A - LA BIOPSIE

Les peaux témoins, les peaux psoriasiques et apparemment saines de psoriasis, les peaux de vitiligo ont été biopsées au punch de 8 mm de diamètre après anesthésie locale à la xylocaïne à 2%.

Cette méthode est simple et reproductible. Comme nous le verrons ultérieurement, le poids frais des prélèvements est sensiblement identique

d'une biopsie à l'autre. Après examen microscopique de quelques peaux saines, nous avons constaté que la profondeur des biopsies ainsi réalisées atteignait la limite entre le derme superficiel et le derme moyen.

Il aurait été intéressant d'utiliser la méthode de biopsie sans anesthésie locale que propose F.URBACH (307), se servant d'un appareil décrit par E.URBACH (306), mais nous ne disposons pas de ce type de matériel. Il s'agit d'un punch électrique rotatif pouvant tourner de 2.000 à 3.000 tours par minute. La vitesse d'exécution est rapide. MONTAGNA utilise, dans des travaux consacrés à la distribution cutanée de la succino déshydrogénase (217) et des estérases non spécifiques (218), ce mode de prélèvement, avec une tête de 5 mm de diamètre.

L'intérêt de cette méthode est la non utilisation d'anesthésique local. En effet, de par son action pharmacologique d'une part, et du fait qu'il peut entraîner une désorganisation des différents éléments structuraux de la peau, l'anesthésique pourrait modifier les résultats. Dans un article consacré à l'étude histochimique d'enzymes utilisant l'adénosine triphosphate comme substrat, CORMANE (61) se sert pour ses prélèvements d'un anesthésique chloréthyl plutôt que de la novocaïne. Cette dernière semblerait interférer avec les techniques histochimiques utilisées, c'est-à-dire la méthode au plomb de WACHSTEIN et MEISEL (316) et la méthode au calcium de PADYKULA et HERMAN (245).

En fait, toutes nos biopsies ont été effectuées sous anesthésie locale et si modification il y a, elle est identique à tous les prélèvements. Comme le but de notre étude est essentiellement la comparaison des résultats obtenus dans différentes affections dermatologiques par rapport à la peau saine témoin, cet inconvénient s'il existe est minime. De très nombreux auteurs se servent du kératome de Castro-viejo avec ou sans anesthésique de surface (chloréthyl en spray par exemple) obtenant des prélèvements épidermiques de 0,2 à 0,4 mm d'épaisseur.

La microméthode API utilisée dans ce travail nous oblige à prélever un minimum de poids frais de 30 mg de peau. Il nous paraissait dans ce cas difficile d'utiliser le kératome, bien que MIER (212) obtienne avec ce matériel 40 mg de poids frais.

B - L'EXERESE EN TOTALITE

1 - Les tumeurs bénignes

Les proliférations tumorales bénignes de type naevique ont été enlevées chirurgicalement sous anesthésie locale. La limite d'incision passait dans tous les cas au large de la tumeur.

Une seule exérèse a été pratiquée sous anesthésie générale. La prolifération était très importante, réalisant une tumeur de 2,8 centimètres de diamètre environ, en position paravertébrale droite, au niveau de la ceinture. Cette intervention a nécessité une plastie en Z avec lambeau de rotation.

Après exérèse, chaque prélèvement était coupé en deux ; une partie destinée à l'anatomo-pathologiste pour un examen microscopique, l'autre pour notre étude enzymologique.

2 - Les tumeurs malignes

Les exérèses des mélanomes malins ont été réalisées sous anesthésie générale. L'incision passait très au large des proliférations, tant latéralement qu'en profondeur.

II - MODE DE CONSERVATION

Chaque pièce de biopsie, une fois prélevée, était rincée au sérum physiologique à 9‰, puis "tamponnée", ceci dans le but d'enlever le maximum de sang pouvant influencer les dosages enzymatiques.

Placés dans des tubes secs, les prélèvements sont plongés de suite après la biopsie, dans l'azote liquide. La durée maximale de conservation a été de 6 semaines.

Certains expérimentateurs (125) conservent leurs prélèvements dans l'isopentane à -86°C .

L'action de la température et de la durée de conservation sur les activités enzymatiques a été analysée par plusieurs auteurs.

HERSHEY et Coll. (136) en 1960 déterminaient pour 5 enzymes (phosphatase acide, aldolase, malate déshydrogénase, lactate déshydrogénase et glucose-6-phosphate déshydrogénase) l'importance de leur baisse d'activité en fonction du temps et de la température de conservation. Il en ressort que ces enzymes sont instables à 0-4 degrés C. Conservés à -20°C, les homogénats conservent la presque totalité de leur potentiel enzymatique pendant au moins 3 mois. Seule l'aldolase perd 20% de son activité au bout de ce laps de temps pour arriver à conserver 60% de celle-ci après 6 mois. Les quatre autres activités enzymatiques restent stables dans ces conditions pendant 6 mois.

Quatre ans plus tard, HERSHEY (137) confirmait ces résultats.

Cependant, CORMANE (61) estime que l'activité des enzymes utilisant l'adénosine triphosphate comme substrat décroît de façon sensible après une ou deux semaines de stockage des prélèvements au froid, mais il ne précise pas la température de conservation.

Il semble donc que ne pas avoir analysé certaines pièces de biopsie avant un délai maximal de 6 semaines soit correct, d'autant que celles-ci ont été conservées dans de l'azote liquide, c'est-à-dire à une température très inférieure à -20°C.

III - ETUDE DES ECHANTILLONS

Nous examinerons successivement les échantillons (au sens statistique du terme) suivants :

- L'échantillon témoin
- L'échantillon de peaux psoriasiques et apparemment saines de psoriasis
- L'échantillon de vitiligo et de peaux saines de vitiligo
- L'échantillon des proliférations bénignes : naevi naevocellulaires
- L'échantillon des mélanomes malins.

A - L'ECHANTILLON TEMOIN

Il comporte 15 prélèvements effectués sur 15 sujets différents, exempts de toute affection dermatologique (seuls 4 d'entre eux étaient traités pour une acné polymorphe juvénile).

Une seule biopsie a été réalisée sur un sujet de sexe féminin.

1 - Age des sujets

Il varie de 20 à 41 ans et l'âge de la plupart d'entre eux est compris entre 20 et 29 ans. Ceci s'explique par le fait qu'il s'agit dans la plupart des cas d'appelés du contingent effectuant leur service national.

La modification des activités enzymatiques en fonction de l'âge est controversée.

L'étude de 17 enzymes faite par SALFELD (277) montrait que l'activité de la plupart d'entre elles diminuait de 15 à 25% au delà de 60 ans.

Trois enzymes ont été étudiées par RIBUFFO (267), la glucose-6-phosphate déshydrogénase, la lactate déshydrogénase et l'aldolase. Il constatait que l'activité des deux premières restait élevée jusqu'à l'âge de 20 ans ; âge à partir duquel la décroissance était progressive et permanente. Seule l'aldolase se maintenait à un taux constant.

A l'inverse, d'autres auteurs n'ont pas trouvé de baisse d'activité en fonction de l'âge.

SERRI et RABBIOSI (286) ont dosé la succino déshydrogénase dans la peau totale de personnes âgées, sans observer de diminution significative.

Une étude plus récente de YAMASAWA et Coll. (347) portant sur 14 enzymes représentatives des voies métaboliques principales a été réalisée sur 63 sujets des deux sexes dont l'âge variait de 1 mois à 90 ans. Il en ressort que les activités enzymatiques ne sont pas modifiées par l'âge et ils notaient aucune différence entre hommes et femmes.

Si l'âge des sujets peut constituer un facteur de variation des résultats, il en est un autre plus important, la localisation anatomique des biopsies.

2 - Localisation anatomique des biopsies cutanées

Les prélèvements de la population témoin ont tous été biopsiés, par souci d'homogénéité, au niveau de la région deltoïdienne droite.

Il est bien connu depuis les progrès techniques réalisés en microdissection par LOWRY (183), en microméthode enzymatique (184) et leurs applications à la peau (137-5), que les activités enzymatiques varient selon la concentration locale de telle ou telle annexe ou selon le développement relatif des différentes couches épidermiques.

Les activités enzymatiques varient donc selon la localisation anatomique des prélèvements étudiés et l'épaisseur de l'épiderme. Ainsi, HERSHEY (137) a montré que l'épiderme fortement kératinisé de la plante des pieds présentait une plus grande activité lactate déshydrogénase que celui, plus mince, de l'abdomen ; par contre les enzymes du cycle de KREBS, la malate déshydrogénase et l'isocitrate déshydrogénase présentaient des réactions plus faibles.

Du fait de ces variations anatomiques, de nombreux auteurs ont porté leur attention sur la détermination de la constante de Michaelis (K_m) qui est indépendante de la concentration enzymatique (63). Ainsi, HOLLA et Coll. (139) ont démontré que la cinétique de l'enzyme adénosine-monophosphate-phosphodiesterase (cAMP-PP) présente une différence constante entre les membres et le tronc.

Dans un éditorial, COTTON (64) commente ces différentes notions de variations d'activité enzymatique.

3 - Poids frais des prélèvements de l'échantillon témoin

Le poids frais des prélèvements cutanés réalisés au punch de 8 mm de diamètre varie de 32 à 46 mg. La plupart d'entre eux ayant un poids de l'ordre de 38 mg.

Cette différence n'influe pas au niveau des résultats car, comme il est expliqué dans la méthode, les pièces de biopsie sont broyées dans de l'eau distillée au tube de Potter, à raison de 35 mg pour 4,5 cc d'eau.

B - L'ECHANTILLON DE PEAUX PSORIASIQUES ET APPAREMMENT SAINES DE PSORIASIS

Cette étude porte sur 15 sujets dont une femme. Il a été fait à chacun d'eux trois biopsies :

- Deux en pleine lésion psoriasique : l'une pour nos dosages enzymatiques, l'autre pour un examen microscopique, de manière à avoir la confirmation anatomo-pathologique de l'affection étudiée. Toutes les biopsies dont l'observation anatomo-pathologique n'a pas confirmé la nature psoriasique, ont été exclues.

- Une au niveau de la peau apparemment saine, effectuée au niveau de la région deltoïdienne droite, tout comme chez les sujets témoins.

1 - Observations cliniques

Elles sont rassemblées sur le Tableau 8. Les données cliniques sont reportées en Annexe I.

SUJETS	AGE (Années)	TYPE DE PSORIASIS	DUREE D'EVOLUTION	LOCALISATION BIOPSIE	REMARQUES
1 - FAU... Francis	21	Guttata	2 mois	Cuisse	Biopsie après 3 jours de traitement
2 - DEP... Michel	46	Universalis	23 ans	Fosse lombaire	Lésions importantes très étendues
3 - VER... Solange	63	Guttata	4 mois	Avant-bras	Traitement interrompu 10 jours avant biopsie
4 - FUC... Otto	58	Typique	1 an	Epaule	
5 - MUL... Serge	19	Typique	8 mois	Avant-bras	Eruption 1 mois après angine
6 - SAT... Roland	20	Typique	8 mois	Bras	
7 - VIN... Charles	20	Guttata	10 ans	Flanc	2 poussées en 10 ans Traitement avant biopsie
8 - DOL... Eric	21	Typique	2 ans	Mollet	
9 - BOI... J.Claude	38	Typique	2 ans	Coude	Première poussée après appendicectomie
10 - CAM... Bernard	22	Typique	5 ans	Coude	Traitement interrompu 1 semaine avant biopsie
11 - COU... Bernard	20	Typique	6 ans	Genou	Mère et soeur psoriasiques
12 - DUD... Christian	31	Typique	9 ans	Jambe	
13 - ILL... Pascal	20	Typique	8 ans	Coude	père psoriasique
14 - BON... Sergio	20	Typique	6 mois	Genou	
15 - DOA... Didier	20	Guttata	3 semaines	Abdomen	

TABEAU 8 : RECAPITULATIF DE L'ECHANTILLON DES SUJETS PSORIASIQUES

2 - Age des sujets et types de psoriasis

Il varie de 19 à 63 ans, et celui de la plupart d'entre eux est compris dans la tranche d'âge allant de 20 à 30 ans, pour la même raison que celle évoquée pour la population témoin.

Comme nous l'indique le Tableau 8, cette étude porte sur :

- 1 psoriasis universalis évoluant depuis 23 ans
- 4 psoriasis Guttata : dans trois cas il s'agit de lésions d'apparition récente (inférieure à 4 mois). Le dernier cas est ancien, puisque la première poussée remonte à 10 ans, mais pendant ce même laps de temps, ce malade n'a fait que deux poussées. Cela est en accord avec le fait que ce type d'éruption semble surtout observé dans les formes de début de la maladie.
- 10 psoriasis typiques

3 - Poids frais des peaux psoriasiques et des peaux apparemment saines de psoriasis

Nous avons effectué 30 prélèvements, non comptés les 15 biopsies de psoriasis destinées à l'anatomo-pathologiste, dont les compte-rendus sont colligés en Annexe II.

a) Peaux psoriasiques

Le poids frais des prélèvements de psoriasis s'échelonne de 35 à 68 mg avec pour la plupart d'entre eux un poids supérieur à 45 mg. Ce poids, plus élevé que celui des peaux témoins, est vraisemblablement lié à l'hyperkératose caractérisant la lésion.

b) Peaux apparemment saines de psoriasis

Il est sensiblement identique à celui des prélèvements de peaux saines témoins, variant de 28 à 47 mg et avoisinant 40 mg.

Ces biopsies ont été effectuées, comme celles des peaux saines témoins, au niveau du deltoïde.

c - L'ECHANTILLON DE VITILIGO ET DE PEAUX SAINES DE VITILIGO

1 - Age et sexe des sujets

Les biopsies ont été réalisées toujours selon la même méthode, chez 5 sujets dont trois femmes et deux hommes.

L'âge de ces malades varie de 18 à 34 ans et la durée de leur affection de 1 à 7 ans.

Les examens anatomo-pathologiques des pièces de biopsie ont confirmé l'étude clinique, avec un aspect typique et l'absence de mélanocytes.

SUJETS	SEXE	AGE	ANCIENNETE (ANNEES)
CUV... Christianne	F	18	2
MAR... Christine	F	23	1
SCH... Gilles	M	27	5
LAD... Mohamed	M	32	6
GRA... Marie-Thérèse	F	34	7

2 - Poids frais des prélèvements de vitiligo et de peaux saines

Ceux-ci s'échelonnent de 20 à 81 mg. Cette grande différence s'explique par le fait que certaines biopsies ont été effectuées avec des punchs de diamètre inférieur à 8 mm. Ceci importe peu, en ce sens que les pièces sont diluées dans un volume d'eau distillée qui leurs est proportionnel.

D - L'ECHANTILLON DES NAEVI NAEVO CELLULAIRES

Il se compose de 21 prélèvements de proliférations bénignes provenant de 12 sujets différents.

En effet, nous avons prélevé chez certains patients plusieurs naevi naevo-cellulaires. Il nous semblait intéressant d'étudier l'activité enzymatique de plusieurs proliférations naeviques d'un même sujet, et voir s'il apparaissait des différences, non seulement enzymatiques, mais également anatomo-pathologiques.

Nous essaierons de voir, lors de l'analyse des résultats, s'il existe une corrélation entre l'activité enzymatique et les constatations microscopiques.

1 - Données cliniques

Nous reportons dans le Tableau 9 l'essentiel des renseignements cliniques et macroscopiques de chacun des sujets de cet échantillon, qui se compose de quatre personnes de sexe féminin et huit de sexe masculin. Leur âge s'échelonne de 16 à 49 ans.

SUJETS	AGE	SEXE	LOCALISATION DE LA BIOPSIE	ACTIVITE JONCTIONNELLE	REMARQUES
1 - IZA... Jean	21	M	Omoplate gauche	-	Peu pigmenté, non pileux. Densité cellules naeviques faible.
2 - " "	"	"	Lombaire droit	+	Pigmenté, non pileux. Densité cellules naeviques faible.
3 - LUT... J. Pierre	20	M	Ceinture dorsale	+	2 cm de diamètre, très pigmenté. Frottements répétés.
4 - MAN... Raymond	33	M	Sus mamelonnaire	-	Pigmenté, non pileux. 0,5cm de diamètre.
5 - " "	"	"	Epaule droite	-	
6 - " "	"	"	Fosse lombaire D	+	Pigmenté-1,5cm de diamètre, très bourgeonnant.
7 - EEC... J. Luc	22	M	Latéro cervical D	+	Hyperchromique, bourgeonnant 0,7cm de diamètre.
8 - " "	"	"	Juxta mamelon-naire	-	Peu pigmenté, avec bourgeon central hyperchromique.
9 - " "	"	"	Axillaire G	+	Pigmenté, non pileux.
10 - DEG... Véronique	16	F	Epaule	+	
11 - ERB... Paola	49	F	Menton	-	Naevus pileux achromique.
12 - " "	"	"	Inter-scapulaire	-	
13 - BAR... Brigitte	22	F	Epaule gauche	-	
14 - " "	"	"	Lombaire droite	-	
15 - MAC... Simone	48	F	Sous claviculaire gauche	-	Irritation chronique du naevus
16 - CHE... Ahmed	6	M	Dorsal	+	Naevus en bête fauve.
17 - PEC... Antoine	23	M	Cuir chevelu	-	Connu depuis 2 ans. Augmente de volume depuis 3 mois.
18 - WAN... J. Luc	20	M	Fosse iliaque G	-	Pigmenté, bourgeonnant.
19 - " "	"	"	Flanc gauche	+	Papillomateux, pigmenté.
20 - " "	"	"	Fosse lombaire D	-	
21 - CHA... J. Paul	23	M	Para dorsal G	+	Peu pigmenté.

TABLEAU 9 : ECHANTILLON DES NAEVI NAEVO-CELLULAIRES

Nous avons rassemblé en Annexe III tous les comptes rendus anatomo-pathologiques.

Sur les 21 naevi naevo-cellulaires étudiés, 9 ont une activité jonctionnelle. Pour certains sujets, chez lesquels nous avons effectué plusieurs prélèvements, nous constatons la présence de proliférations naeviques avec et sans activité jonctionnelle.

2 - Poids frais des prélèvements

Les exérèses étaient réalisées en totalité et le poids frais des pièces obtenues a toujours été supérieur à nos besoins. Il nous a donc fallu les recouper, et nous conservions pour l'étude enzymatique la partie pigmentée des pièces de biopsie.

E - L'ECHANTILLON DE MELANOMES MALINS

Il se compose de trois personnes, de sexe masculin, ayant respectivement 28, 53 et 82 ans.

L'une des tumeurs paraît s'être développée sur une mélanose de Dubreuilh préexistante.

SUJETS	AGE	LOCALISATION	NIVEAU
BER... Patrick	28	Cuisse	V
PRA... Albert	53	Dos	IV
MIL... Jean	82	Pied	IV

Comme les naevi naevo-cellulaires, les pièces de naevo-carcinomes ont été recoupées, en conservant la partie pigmentée.

Nous colligeons en Annexe IV les résultats des observations microscopiques.

LA METHODE

I - LE DISPOSITIF TECHNIQUE

A - HISTORIQUE

En 1967, BUISSIERE et Coll. (43) mettaient au point un dispositif expérimental utilisable dans le domaine bactériologique, pour l'étude des fermentations des sucres par les Bactéries. C'est en 1968 (44) que les premiers résultats concernant cinq souches d'*Escherichia coli* furent publiés.

Ce matériel se composait de microcuves capillaires solidaires les unes des autres et obtenues par soudure de deux feuilles de plastique entre lesquelles est inséré un support spécial (papier de texture particulière) dont les fibres assurent une dispersion convenable des substrats. Deux orifices permettent l'introduction dans le capillaire des solutions de substrats, suspensions bactériennes ou broyats cellulaires, réactifs divers. Dix capillaires ou plus sont groupés sur une même plaquette.

Le dispositif de BUISSIERE, primitivement conçu pour faciliter et préciser la taxonomie bactérienne, a pu être étendu et appliqué dans un cadre fort différent : la détection des activités enzymatiques tissulaires à l'aide de substrats synthétiques après que de multiples améliorations aient été apportées à la méthode.

Les étapes successives de cette mise au point ont été réalisées essentiellement dans deux laboratoires lyonnais : celui de la section de Bactériologie générale du Centre de Recherches du Service de Santé des Armées et le Laboratoire de Biologie de l'Institut National des Sciences Appliquées de Lyon.

Un certain nombre de travaux ont été réalisés avec ce dispositif expérimental sur des matériels très divers :

* Cellules, tissus et organes

- Tissus d'Insectes :

- PLANTEVIN et Coll. (251)
- NARDON et PLANTEVIN (225)
- PLANTEVIN et NARDON (252)
- GRENIER et Coll. (114)

- Tissus de Poissons :

- BRETON et Coll. (40)

- Tissus de Mammifères supérieurs :

- . pancréas de Lapin : COURTOT (65)
- . cellules lymphoblastoïdes humaines
en culture : BUISSIÈRE et Coll. (45)

* Liquides biologiques

- hémolymphe d'Insectes :

- NARDON et PLANTEVIN (226)

- sécrétions tubaires de Mammifères :

- MENEZO (200-202)
- MENEZO et LAVIOLETTE (201)

- Liquides séminal de Mammifères :

- MENEZO et FLECHON (203)
- de poissons :
- BRETON et Coll. (41)

- Sérum sanguin et liquide folliculaire de Mammifères :

- MENEZO et TESTARD (204)

En 1973, dans une note de synthèse, LAVIOLETTE (179) a réuni les principaux résultats qui concernent l'ensemble des travaux réalisés sur le dispositif de BUISSIERE.

L'expérience acquise a permis la réalisation d'un dispositif nouveau, API ZYM, dont la mise au point répondait à un double objectif :

- d'une part, la miniaturisation du plus grand nombre possible de méthodes utilisant des réactions colorimétriques pour mettre en évidence et doser des activités enzymatiques, en faisant appel aux substrats enzymatiques chromogènes.

- d'autre part, le regroupement des différents tests au sein d'un même dispositif, de façon à les mettre en oeuvre simultanément avec le minimum de manipulation.

La galerie "API ZYM" 19 caractères est commercialisée par API SYSTEM depuis 1975. Par la suite, la microtechnique API ZYM a été élargie à la mise en évidence d'autres activités enzymatiques. Le dispositif utilisé pour ces nouveaux caractères demeure inchangé et c'est ce que nous allons décrire maintenant.

B - STRUCTURE DU DISPOSITIF API ZYM

1 - Forme du dispositif

Il se présente sous la forme de cupules légèrement ovalisées, d'un volume de 200 microlitres chacune, de 10 mm sur 8 mm.

Cette surface de base, importante par rapport à la hauteur, permet l'évaporation rapide des solvants qui sont utilisés pour déposer les substrats. Par ailleurs, le volume est suffisant pour qu'un ou plusieurs réactifs puissent être ajoutés en début ou en fin de réaction.

La juxtaposition des cupules au sein d'un même dispositif constitue une galerie dont chaque élément peut être le siège d'une réaction enzymatique particulière.

Les cupules sont obtenues par soudure de deux feuilles de plastique (chlorure de polyvinyl) entre lesquelles est inséré un support spécial.

2 - Le support

Il s'agit d'un support fibreux, contenant le substrat avec son tampon qui a pour rôle de fixer dans des proportions adéquates tous les réactifs nécessaires au bon déroulement de chaque réaction enzymatique.

En assurant la répartition des molécules de substrat sur la surface des fibres après évaporation du solvant, ce support facilite leur attaque enzymatique lorsqu'elles sont insolubles ou peu solubles, et crée des conditions réactionnelles voisines de celles réalisées lors d'un dosage enzymatique classique avec un substrat soluble.

Ce support est en viscose, dont la nature lui permet d'être chimiquement inerte et insoluble dans les solvants organiques les plus courants. Il présente une structure très lâche ainsi que des propriétés voisines de celles du papier. Les fibres sont suffisamment fines pour assurer une fixation convenable des réactifs.

II - LA METHODE

La mise au point définitive de la microméthode API ZYM est due à MONGET (215). Il collige dans sa thèse de doctorat l'ensemble de ses travaux ainsi que les résultats obtenus dans différents domaines d'application.

L'ensemble des galeries recouvre 67 activités enzymatiques de type hydrolase et déshydrogénase.

A - LES HYDROLASES

1 - Les enzymes et les substrats

a) Les substrats

L'utilisation des substrats au naphthol repose sur deux critères essentiels :

- d'une part la très bonne visualisation des réactions colorées
- d'autre part, la très grande homogénéité de la galerie, aussi bien dans la nature des enzymes à tester que surtout dans la façon de les mettre en évidence. La conséquence immédiate de ce choix réside dans la limitation du nombre de réactifs à ajouter et de ce fait, celle des manipulations élémentaires.

Le naphthol libre n'est pas directement chromogène et doit être couplé à un sel de diazonium pour former un complexe coloré, insoluble en milieu aqueux, comme nous le verrons ultérieurement.

b) Activités enzymatiques recherchées et leurs substrats

Le dispositif regroupe 59 tests hydrolases, tous différents ; la première cupule devant toujours servir de témoin de contrôle. Ces hydrolases se répartissent de la façon suivante :

- 4 activités phosphatasiques : alcaline, acide, phosphoamidase, phosphodiesterase.
- 3 activités estérasiques : estérase, estérase-lipase, lipase.
- 35 activités protéasiques.
- 16 activités glycosidasiques
- 1 activité arylsulfatase.

1. Phosphatases

Les phosphatases alcalines et acides sont mises en évidence avec la 2-naphtylphosphate. Largement présentes dans le règne animal et végétal, elles sont appelées phosphatases non spécifiques par opposition aux phosphatases dites spécifiques (5'-nucléotidase, glucose-6-phosphate...) car elles sont seulement spécifiques du mode de liaison en catalysant le clivage hydrolytique des esters phosphoriques.

Les phosphoamidases, en plus de l'hydrolyse des amides phosphoriques N substitués (phospho-arginine, phospho créatine), catalysent celle des substrats synthétiques comme le naphtol AS-BI phosphodiamide. Difficilement distinguable des phosphatases non spécifiques leur caractérisation est obtenue dans une gamme de pH comprise entre 5 et 6 (46) ; 5,4 dans la méthode utilisée.

N°	ENZYME	SUBSTRAT	pH
2	Phosphatase alcaline	2-naphtyl phosphate	8,5
11	Phosphatase acide	2-naphtyl phosphate	5,4
12	Phosphoamidase	Naphtol-AS-BI-phosphodiamide	5,4
22	Phosphodiesterase	Bis-paranitrophénylphosphate	5,4

TABLEAU 10 : CARACTERES PHOSPHATASES ET LEURS SUBSTRATS. pH d'UTILISATION.

2. Estérases - lipases

Ces enzymes peuvent être mises en évidence avec les esters du 2-naphtol.

La limite entre estérase et lipase reste floue. Il est généralement admis que la chaîne aliphatique de l'ester doit comporter au moins 14 carbones pour que la réaction soit spécifique d'une activité lipasique (263).

Par contre, l'attaque des esters du 2-naphtol à chaîne égale ou inférieure à 10 carbones caractérise les aliestérase, encore appelées arylestérase ou estérase non spécifiques.

Le groupe estérase-lipase présentant une très grande hétérogénéité, MONGET a utilisé 3 substrats, préférant pour les chaînes courtes le 2-naphtylbutyrate au 2-naphtylacétate en raison de sa meilleure stabilité.

N	ENZYME	SUBSTRAT	pH
3	Estérase (C ₄)	2-naphtylbutyrate	7,5
4	Estérase-lipase (C ₈)	2-naphtylcaprilate	7,5
5	Lipase (C ₁₄)	2-naphtylmyristate	7,5

TABEAU 11 : CARACTERES ESTERASES-LIPASES ET LEURS SUBSTRATS.
pH D'UTILISATION.

3. Protéases : aminopeptidases et protéinases

- Les aminoacides arylamidases forment une classe particulière d'aminopeptidases. Elles hydrolysent préférentiellement les substrats chromogènes tels que les aminoacides naphtylamides. Ces substrats peuvent être partiellement hydrolysés par des aminopeptidases vraies et ne présentent pas une spécificité marquée. Le degré d'hydrolyse dépend de l'acide-amino utilisé mais aussi du groupement naphtylamide, qui en fait serait le plus influent (246).

Les données de la littérature ont montré qu'il était impossible de classer ces caractères en groupes homogènes, pour

n'en conserver que les éléments les plus représentatifs. Chaque naphtylamide est capable de se comporter différemment des autres, selon l'échantillon biologique auquel on s'adresse.

L'activité aminopeptidase ou arylamidase de type ocytocinase peut être mise en évidence par le L-cystyl-2-naphtylamide (276) mais peut être mesurée également avec le S-benzyl-L-cystéyl-2-naphtylamide (339).

Les transpeptidases constituent une famille particulière de peptidases et devraient plutôt être rattachées au groupe des transférase. L'un des représentants les plus étudiés est la γ -glutamyl transpeptidase (γ -GT). ORLOWSKI et SZEWCZUK dosent cette enzyme à l'aide du γ -L-glutamyl-2-naphtylamide (242). La γ -GT n'hydrolyse pas les autres naphtylamides.

Il ne faut pas confondre le γ -L-glutamyl-2-naphtylamide avec l' α -L-glutamyl-2-naphtylamide, employé pour détecter une activité arylamidase.

Le pyrrolidonyl-2-naphtylamide est un substrat particulier, puisque la partie glycone n'est pas constituée d'un acide aminé mais de l'acide pyrrolidonylcarboxylique. Il est hydrolysé spécifiquement par la pyrrolidonyl peptidase, dont la présence a été démontrée chez les plantes, les animaux et l'homme (300).

- Les protéinases rompent les liaisons peptidiques CO-NH à l'intérieur des grosses molécules protéiques pour les réduire à l'état de polypeptides. Pour cette raison, ces enzymes sont des endopeptidases, alors que les peptidases qui scindent les liaisons aux extrémités des chaînes protéiques sont des exopeptidases.

La trypsine et la chymotrypsine sont les représentants les plus étudiés de ce groupe.

La trypsine, outre son action protéinasique, possède des fonctions estérasique et amidasique. Cette dernière est testée à l'aide du substrat N-benzoyl-DL-arginine-2-naphtylamide (106).

L'activité chymotrypsine est déterminée par la propriété estérolytique de l'enzyme, avec pour substrat N-benzoyl-DL-phénylalanine-2-naphtylester (25). Le glutaryl-phénylalanine-2-naphtylamide permet de tester son activité amidasique (25).

N°	ENZYMES	SUBSTRATS
6	L-leucine-2-naphtylamidase	L-leucyl-2-naphtylamide
7	L-valine-2-naphtylamidase	L-valyl-2-naphtylamide
8	L-cystine-2-naphtylamidase (ocytocinase)	L-cystyl-2-naphtylamide
9	Trypsine	N-benzoyl-DL-arginine-2-naphtylamide
10	Chymotrypsine	N-benzoyl-DL-phényl-alanine-2naphtylester
31	L-tyrosine-2-naphtylamidase	L-tyrosyl-2-naphtylamide
32	L-pyrrolidonyl peptidase	L-pyrrolidonyl-2-naphtylamide
33	L-phénylalanine-2-naphtylamidase	L-phénylalanyl-2-naphtylamide
34	L-lysine-2-naphtylamidase	L-lysyl-2-naphtylamide
35	L-hydroxyproline-2-naphtylamidase	L-hydroxyprolyl-2-naphtylamide
36	L-histidine-2-naphtylamidase	L-histidyl-2-naphtylamide
37	Glycine-2-naphtylamidase	L-glycyl-2-naphtylamide
38	α L-acide aspartique-2-naphtyla- midase	α L-aspartyl-2-naphtylamide
39	L-arginine-2-naphtylamidase	L-arginyl-2-naphtylamide
40	L-alanine-2-naphtylamidase	DL-alanyl-2-naphtylamide
41	γ L-acide glutamique transpeptidase	N- γ -L-glutamyl-2-naphtylamide
42	N-benzoyl-L-leucine-2-naphtylami- dase	N-benzoyl-L-leucyl-2-naphtylamide
43	S-benzyl-L-cystéine-2-naphtylami- dase(ocytocinase)	S-benzyl-L-cystéyl-2-naphtylamide
44	N-glutaryl-L-phénylalanine-2-naphty- lamidase (chymotrypsine)	N-glutaryl-L-phénylalanyl-2-naphtylami- de
45	L-méthionine-2-naphtylamidase	DL-méthionyl-2-naphtylamide
46	Glycyl-glycine-2-naphtylamidase	Glycyl-glycyl-2-naphtylamide
47	Glycyl-L-phénylalanine-2-naphtyla- midase	Glycyl-L-phénylalanyl-2-naphtylamide
48	Glycyl-L-proline-2-naphtylamidase	Glycyl-L-prolyl-2-naphtylamide
49	L-leucyl-glycine-2-naphtylamidase	L-leucyl-glycyl-2-naphtylamide
50	L-séryl-L-tyrosine-2-naphtylamidase	L-séryl-L-tyrosyl-2-naphtylamide
51	N-CBZ-L-arginyl-4-méthoxy-2-naphty- lamidase	N-CBZ-L-arginyl-4-méthoxy-2-naphtylami- de
52	L-glutamine-2-naphtylamidase	L-glutamine-2-naphtylamide
53	α L-acide glutamique-2-naphtyla- midase	α L-glutamyl-2-naphtylamide
54	L-isoleucine-2-naphtylamidase	L-isoleucyl-2-naphtylamide
55	L-ornithine-2-naphtylamidase	L-ornithyl-2-naphtylamide
56	L-proline-2-naphtylamidase	L-prolyl-2-naphtylamide
57	L-sérine-2-naphtylamidase	L-séryl-2-naphtylamide
58	L-thréonine-2-naphtylamidase	L-thréonyl-2-naphtylamide
59	L-tryptophane-2-naphtylamidase	L-thryptophyl-2-naphtylamide
60	N-CBZ-glycyl-glycyl-L-arginine- 2-naphtylamidase	N-CBZ-glycyl-glycyl-L-arginyl-2- naphtylamide

TABLEAU 12 : CARACTERES PROTEASIQUES ET LEURS SUBSTRATS - pH : 7,5 (sauf pour la Trypsine, pH : 8,5).

4. Glycosidases

La méthode API ZYM permet d'étudier 16 activités glycosidasiques à l'aide de substrats au naphтол, au nitrophénol ou à la 4-méthylumbelliférone.

La β -glucuronidase, comme la phosphatase acide, est un des principaux "marqueurs" lysosomiques (85).

L' α L-fucosidase et l' α D-mannosidase sont des enzymes très répandues, aussi bien dans le règne animal que végétal. Le L-fucose est un sucre terminal important dans le complexe glycoprotéique des surfaces cellulaires (268). C'est aussi un constituant fréquent des mucosubstances (181).

Le D-mannose entre dans la composition de nombreux polysaccharides, phospholipides et glycoprotéines.

La β D-xylosidase est mise en évidence comme les précédentes par un substrat au naphтол. Recherchée dans les bactéries pour son intérêt toxonomique, cette enzyme est également répandue dans les règnes végétal et animal.

Certaines glycosidases sont décelées avec des substrats au nitrophénol ou à la 4-méthylumbelliférone. La révélation s'effectue en milieu alcalin en ajoutant en fin d'incubation une goutte de NaOH 1N. Le nitrophénol libre se colore en jaune, alors que la 4-méthylumbelliférone émet une fluorescence bleue quand on excite la molécule à l'aide d'un rayonnement UV à 360 nm (60).

Si les substrats au nitrophénol possèdent un plus faible pouvoir chromogène que leurs homologues au naphтол, le seuil de sensibilité des tests à la 4-méthylumbelliférone est identique à celui qu'on peut atteindre avec un naphтол.

N°	ENZYME	SUBSTRAT
13	α D-galactosidase	6-Br-2-naphtyl- α D-galactopyranoside
14	β D-galactosidase	2-naphtyl- β D-galactopyranoside
15	β D-glucuronidase	naphtol-AS-BI- β D-glucuronate
16	α D-glucosidase	2-naphtyl- α D-glucopyranoside
17	β D-glucosidase	6-Br-2-naphtyl- β D-glucopyranoside
18	N-acétyl- β D-glucosaminidase	1-naphtyl-N-acétyl- β D-glucosaminide
19	α D-mannosidase	6-Br-2-naphtyl- α D-mannopyranoside
20	α L-fucosidase	2-naphtyl- α L-fucopyranoside
21	β D-xylosidase	6-bromo-2-naphtyl- β D-xylopyranoside
23	α D-xylosidase	p-nitrophényl- α D-xylopyranoside
24	β D-fucosidase	p-nitrophényl- β D-fucopyranoside
25	β L-fucosidase	p-nitrophényl- β L-fucopyranoside
26	N-acétyl- α D-glucosaminidase	O-nitrophényl-N-acétyl- α D-glucosaminide
27	Lactosidase	p-nitrophényl lactoside
29	α L-arabinosidase	4-méthylumbelliféryl- α L-arabinopyranoside
30	β D-cellobiosidase	4-méthylumbelliféryl- β D-cellobiopyranoside

TABLEAU 13 : CARACTERES GLYCOSIDASES ET LEURS SUBSTRATS. pH D'UTILISATION 5,4

5. Arylsulfatases

Les arylsulfatases qui catalysent l'hydrolyse des arylsulfates , comprennent 3 enzymes A, B et C ayant des propriétés différentes. Le paranitrocatéchol sert de substrat. Le test est pratiqué à pH 5,4. Dans le cas d'une réaction positive, le caractère vire du jaune au rouge après addition d'une goutte de NaOH 1N en fin d'incubation (348).

c) Concentration en substrats utilisée

Pour chaque cupule, la concentration en substrat est de 100 nanomoles.

Ainsi, une note 5 (dans une échelle de 0 à 5) est attribuée lorsque la moitié du substrat contenu dans une cupule est hydrolysée.

2 - Les tampons et leur pH

Chaque cupule est imprégnée simultanément par le substrat et le tampon, ce qui simplifie la méthodologie. Ainsi, le même échantillon biologique est utilisé pour mettre en oeuvre les 59 activités enzymatiques, sans avoir à déposer au préalable dans chacune des cupules le stabilisateur de pH.

Il s'agit de tampons de GOMORI à base de tris (hydroxyméthyl) - aminométhane (TRIS)

- TRIS-maléate 0,05 M, gamme de pH : 5,08 à 8,45
- TRIS-HCL 0,05 M, gamme de pH : 7,19 à 9,10

Compte tenu des zones de pH couvertes par ces deux tampons, le TRIS - maléate est employé pour des pH inférieurs ou égaux à la neutralité ; alors que le tris-HCL est utilisé pour des pH égaux ou supérieurs à 7,4.

Les différents pH utilisés pour les 59 réactions enzymatiques sont indiqués dans les tableaux. Chacun d'eux ne correspond pas forcément au pH optimal des activités recherchées et pour la même enzyme, le pH peut varier de quelques unités selon le matériel biologique à tester.

Le pH utilisé est un pH moyen. Les courbes représentant l'activité de ces hydrolases en fonction du pH ont une forme en cloche et une variation d'une unité de part et d'autre du pH optimal n'est pas très gênante pour le dosage.

3 - Mise en évidence des activités hydrolases

a) Principe de mise en évidence

- Dans un premier temps, le substrat à base de naphtol est hydrolysé par l'enzyme au cours de l'incubation.
- Dans un second temps, le dérivé naphtolique libéré est révélé colorimétriquement par couplage avec un sel de diazonium.



Ainsi, l'intensité de la coloration obtenue est directement proportionnelle à la quantité de naphtol libéré et donc à l'activité enzymatique recherchée.

b) Le sel de diazonium

Est utilisé dans la méthode Le Fast Blue BB qui répond aux conditions essentielles, c'est-à-dire :

- copuler rapidement avec les dérivés naphtoliques utilisés,
- donner avec les naphtols des colorants azoïques facilement visualisables,
- rester incolore ou faiblement coloré en solution pour ne pas gêner la lecture.

Cependant, le Fast Blue BB donne de par sa coloration, un fond coloré en jaune. Mais celui-ci est facilement éliminé par une exposition de quelques secondes à un rayonnement d'une torche lumineuse (1000 W) placée à 10 cm environ des plaquettes.

c) Solubilisation des colorants azoïques

Le laurylsulfate de sodium est un agent tensio-actif qui dissout totalement le colorant azoïque en l'introduisant dans le milieu réactionnel au moment de la copulation (13,334).

En solubilisant le complexe azoïque, ce composé augmente fortement la coloration des grains de précipité qui se formeraient normalement au cours de l'azo-réaction et contribue ainsi à accroître la sensibilité de la réaction colorimétrique.

Deux milligrammes pour 50 nanomoles de naphthol constituent la concentration idéale, soit dans chaque cupule 20 microlitres d'une solution à 100 g. par litre.

d) Technique de révélation des activités enzymatiques

Pour que la réaction de copulation ait lieu dans les conditions optimales, il est indispensable d'uniformiser le pH à 7,6-7,8 dans toutes les cupules en fin d'incubation. Pour ce faire, on utilise un tampon TRIS-HCL de forte molarité.

Ce dernier tampon et le laurylsulfate de sodium sont réunis dans un réactif unique, dont voici la composition :

- Tris (hydroxyméthyl) aminométhane	250 g.
- HCL 37%	110ml
- Laurylsulfate de sodium	100 g.
- Eau distillée q.s.p.	1 l.

La solution de révélation des activités enzymatiques est préparée en dissolvant extemporanément 35 mg de Fast Blue BB (SIGMA N° F 0250 - Pureté 35%) dans 10 ml du réactif précédent. Cette solution est alors répartie dans chaque cupule à raison de 20 microlitres (1 goutte). Il est à noter que la solution contenant le Fast Blue BB ne se conserve que 15 minutes environ.

4 - Durée d'incubation des hydrolases

La vitesse des réactions enzymatiques n'est pas uniforme d'une cupule à l'autre. Elle est plus rapide pour les phosphatases, estérases et amino-peptidases que pour les protéinases et les glycosidases. Elle dépend également du matériel biologique étudié et de la concentration de l'extrait préparé.

Après répartition de l'extrait et des différents réactifs les galeries incubent 3 heures à une température de 37°.

B - LES DESHYDROGENASES

Ces enzymes catalysent le transfert d'hydrogène d'un donneur spécifique sur un accepteur. Ce dernier est le plus souvent, soit le nicotinamide adénine dinucléotide (NAD : coenzyme 1), soit le nicotinamide dinucléotide phosphate (NADP : coenzyme 2).

1 - Les composants de la galerie déshydrogénase

a) Le sel de tétrazolium utilisé

Les déshydrogénases sont colorimétriquement mises en évidence par les sels de tétrazolium qui servent d'accepteurs de l'hydrogène du NADH ou du NADPH pour former irréversiblement des formazans colorés insolubles.

La méthode API utilise le NBT dont le formazan violet est facilement visualisable.

La note 5 qui correspond à une coloration atteignant la saturation visuelle, est attribuée lorsque 14 nanomoles de formazan sont formés. Pour les essais enzymatiques, 28 nanomoles de NBT sont déposés dans chaque cupule. La note maximale est donc donnée quand la moitié du sel de tétrazolium a été réduite.

b) Les substrats, leur concentration

Les 8 déshydrogénases étudiées sont regroupées dans le Tableau 14. Les deux premières cupules de la galerie servent de témoin l'une ayant NAD pour coenzyme, l'autre NADP.

ENZYMES	SUBSTRATS	COENZYMES	pH
Témoin	-	NAD	8,0
Témoin	-	NADP	"
Glucose-6-phosphate déshydrogénase	D-glucose-6-phosphate	NADP	"
α -glycérophosphate déshydrogénase	DL-glycérophosphate	NAD	"
Isocitrate déshydrogénase	DL-isocitrate	NADP	"
Lactate déshydrogénase	L-lactate	NAD	"
Malate déshydrogénase	L-malate	NAD	"
6-phosphogluconate déshydrogénase	6-phosphogluconate	NADP	"
Succino-déshydrogénase	Succinate	-	"
Xanthine oxydase (xanthine déshydrogénase)	Xanthine	-	"

TABLEAU 14 : DESHYDROGENASES ET LEURS SUBSTRATS.
COENZYMES ET PH D'UTILISATION

La succino-déshydrogénase et la xanthine-oxydase utilisent FAD comme coenzyme.

La quantité de substrat déposé dans chaque cupule est de 1 micromole (aucune inhibition par excès de substrat n'a été observée avec des quantités variant de 50 nanomoles à 1 micromole).

c) Concentration en coenzymes; Phénazine méthosulfate (PMS)

Chaque cupule contient 30 nanomoles de coenzyme NAD ou NADP.

Dans les tissus biologiques, il existe des diaphorases, enzymes non spécifiques dont le rôle est de transférer l'hydrogène du coenzyme réduit sur un autre accepteur, ici le sel de tétrazolium. Ces enzymes peuvent être en quantité insuffisante dans l'extrait à tester et constituent souvent un facteur limitant pour les réactions enzymatiques "in vitro". Aussi, lorsqu'ils utilisent des sels de tétrazolium, beaucoup d'auteurs ajoutent une diaphorase dans leur milieu d'incubation (20).

En raison des problèmes que posent l'addition de cette enzyme dans les cupules API ZYM, MONGET utilise la PMS (8), composé chimique qui joue un rôle analogue à celui des diaphorases, à raison de 3,5 nanomoles par cupule.

d) La tampon utilisé

Les déshydrogénases possèdent un pH optimal d'action situé dans une gamme comprise entre 7,5 et 9,0 suivant l'activité concernée.

On utilise le tampon TRIS-HCL 0,05 M avec un pH fixé à 8.

e) Polyvinylpyrrolidone (PVP)

Afin d'améliorer la sensibilité de la détection des déshydrogénases, il faut rendre homogène la coloration résultant de la réduction du NBT en formazan, qui normalement précipite en se formant.

Pour ce faire, on utilise le PVP qui, ajouté dans le milieu d'incubation à raison de 0,4 mg par cupule, empêche le formazan de précipiter.

2 - Réalisation de la galerie

Chaque cupule ne contient pas tous les réactifs nécessaires à la réaction colorimétrique. En effet, le NBT et surtout la PMS sont des composés très sensibles à la lumière et instables après séchage sur le support. De plus, ces deux réactifs se décomposent rapidement lorsqu'on les conserve dans une solution aqueuse contenant le tampon.

De ce fait, les cupules sont imprégnées par des solutions aqueuses contenant uniquement :

- le substrat (1 μ M par cupule)
- le coenzyme (30 nM) si l'enzyme est liée au NAD ou au NADP.

Les autres réactifs : tampon, PVP, NBT + PMS sont ajoutés en solution au moment de l'emploi des galeries.

3 - Durée d'incubation

Les dépôts sont incubés pendant 30 minutes à une température de 37°.

C - MODE OPERATOIRE DES GALERIES HYDROLASES ET DESHYDROGENASES

1 - Mode opératoire des hydrolases

Après préparation d'une boîte individuelle d'incubation (fond alvéolé et couvercle), on répartit dans les alvéoles 5 ml d'eau environ, de manière à réaliser une chambre humide et éviter l'évaporation de l'échantillon au cours de l'incubation.

- L'échantillon est broyé au tube de Potter dans l'eau distillée et répartie à la pipette Pasteur à raison de deux gouttes (65 µl) par cupule.

- La boîte fermée est mise à incuber 3 heures à 37°.

- Après incubation, on ajoute une goutte de solution de révélation à base de Fast Blue BB dans chacune des cupules de la galerie. On laisse apparaître puis se développer les colorations pendant 5 minutes environ.

- Dans un dernier temps, la galerie est exposée une dizaine de secondes au rayonnement d'une lampe très puissante.

2 - Mode opératoire des déshydrogénases

Avant le dépôt de l'extrait enzymatique à tester, on introduit le tampon et le réactif de révélation.

- On dépose dans chaque cupule 40 microlitres (1 goutte) de solution tampon contenant :

- 18,8 g	TRIS	} QSP 1 litre H ₂ O
- 7,3 ml	HCL pur à 37%	
- 10 g	PVP	

- Nous y ajoutons alors 1 goutte de réactif de révélation:

- 60 mg	NBT	} pour 100 ml d'eau
- 2,7 mg	PMS	

- Puis nous introduisons dans chaque cupule 1 goutte d'extrait enzymatique. La molarité et le pH du tampon sont alors respectivement ramenés à 0,05 M et 8,0.

- Mise en place dans l'incubateur 30 minutes à une température de 37°.

Il est possible, après incubation, de bloquer les réactions enzymatiques et d'empêcher toute réduction ultérieure du NBT qui n'a pas réagi en ajoutant une goutte d'HCL 1 N.

N°	Abréviation	Enzyme	pH d'utilisation
1	-	Témoin	-
2	Ph.alc.	Phosphatase alcaline	8,5
3	Est.	Estérase (c4)	7,5
4	Est./Lip.	Estérase /lipase (c8)	7,5
5	Lip.	Lipase (C14)	7,5
6	Pept.	L-leucine-2-naphtylamidase	7,5
7	Pept.	L-valine-2-naphtylamidase	7,5
8	Pept.	L-cystine-2-naphtylamidase (ocytocinase)	7,5
9	Tryp.	Trypsine	8
10	Chym.	Chymotrypsine	7,5
11	Ph.ac.	Phosphatase acide	5,4
12	Ph. am.	Phosphoamidase	5,4
13	α D gal.	α D-galactosidase	5,4
14	β D gal.	β D-galactosidase	5,4
15	β D glucu.	β D-glucuronidase	5,4
16	α D glu.	α D-glucosidase	5,4
17	β D glu.	β D-glucosidase	5,4
18	N-AC- β D-gluc.	N-acétyl- β D-glucosaminidase	5,4
19	α D man.	α D-mannosidase	5,4
20	α L fuc.	α L-fucosidase	5,4
21	β D xyl.	β D-xylosidase	5,4
22	PDE	Phosphodiesterase	5,4
23	α D xyl.	α D-xylosidase	5,4
24	β D fuc.	β D-fucosidase	5,4
25	β L fuc.	β L-fucosidase	5,4
26	N-AC- α D-gluc.	N-acétyl- α D-glucosaminidase	5,4
27	Lact.	Lactosidase	5,4
28	Sulf.	Arylsulfatase	5,4
29	α L arab.	α L-arabinosidase	5,4
30	β D cellob.	β D-cellobiosidase	5,4
31	Pept.	L-tyrosine-2-naphtylamidase	7,5
32	Pept.	L-pyrrolidonyl peptidase	7,5
33	Pept.	L-phénylalanine-2-naphtylamidase	7,5
34	Pept.	L-lysine-2-naphtylamidase	7,5
35	Pept.	L-hydroxyproline-2-naphtylamidase	7,5
36	Pept.	L-histidine-2-naphtylamidase	7,5
37	Pept.	Glycine-2-naphtylamidase	7,5
38	Pept.	α L-acide aspartique-2-naphtylamidase	7,5
39	Pept.	L-arginine-2-naphtylamidase	7,5
40	Pept.	L-alanine-2-naphtylamidase	7,5
41	γ GT	γ L-acide glutamique transpeptidase	7,5
42	Prot.	N-benzoyl-L-leucine-2-naphtylamidase	7,5
43	Pept.	S-benzyl-L-cystéine-2-naphtylamidase (ocytocinase)	7,5
44	Chym.	N-glutaryl-L-phénylalanine-2-naphtylamidase (chymotrypsine)	7,5
45	Pept.	L-méthionine-2-naphtylamidase	7,5
46	Pept.	Glycyl-glycine-2-naphtylamidase	7,5
47	Pept.	Glycyl-L-phénylalanine-2-naphtylamidase	7,5
48	Pept.	Glycyl-L-proline-2-naphtylamidase	7,5
49	Pept.	L-leucyl-glycine-2-naphtylamidase	7,5
50	Pept.	L-séryl-L-tyrosine-2-naphtylamidase	7,5
51	Prot.	N-CBZ-L-arginyl-4-méthoxy-2-naphtylamidase	7,5
52	Pept.	L-glutamine-2-naphtylamidase	7,5
53	Pept.	α L-acide glutamique-2-naphtylamidase	7,5
54	Pept.	L-isoleucine-2-naphtylamidase	7,5
55	Pept.	L-ornithine-2-naphtylamidase	7,5
56	Pept.	L-proline-2-naphtylamidase	7,5
57	Pept.	L-sérine-2-naphtylamidase	7,5
58	Pept.	L-thréonine-2-naphtylamidase	7,5
59	Pept.	L-tryptophane-2-naphtylamidase	7,5
60	Prot.	N-CBZ-glycyl-glycyl-L-arginine-2-naphtylamidase	7,5
61	-	NAD témoin	8,0
62	-	NADP témoin	8,0
63	G-6-PDH	Glucose-6-phosphate déshydrogénase	8,0
64	α -GPDH	α -glycérophosphate déshydrogénase	8,0
65	IDH	Isocitrate déshydrogénase	8,0
66	LDH	Lactate déshydrogénase	8,0
67	MDH	Malate déshydrogénase	8,0
68	6-PGDH	6-phosphogluconate déshydrogénase	8,0
69	SDH	Succino déshydrogénase	8,0
70	XOD	Xanthine oxydase (xanthine déshydrogénase)	8,0

TABLEAU 15: LISTE RECAPITULATIVE DES ACTIVITES ENZYMATIQUES. pH D'UTILISATION.

D - LECTURE SEMI-QUANTITATIVE DES GALERIES

Les colorations obtenues sont notées visuellement selon une échelle de lecture allant de 0 à 5.

La note 0 est attribuée à une réaction négative et la note 5 à une réaction d'intensité maximale, c'est-à-dire atteignant la saturation visuelle.

La note 1 correspond à la libération enzymatique de 5 nM de naphtol

"	"	2	"	"	"	"	10 nM	"
"	"	3	"	"	"	"	20 nM	"
"	"	4	"	"	"	"	30 nM	"
"	"	5	"	"	"	"	40-50 nM de naphtol et plus	

Il s'agit d'évaluations spectrophotométriques et densitométriques obtenues par MONGET (215).

La concentration minimale de naphtol libre en deçà de laquelle l'oeil n'est plus capable d'apprécier une coloration est de 2 nanomoles par cupule. La lecture visuelle des activités enzymatiques apparaît donc comme une méthode extrêmement sensible.

III - METHODE API EN DERMATOLOGIE

A - PREPARATION DES PRELEVEMENTS

Pour être utilisées, les pièces de biopsie ont été broyées au tube de Potter. Cette opération était rendue difficile par la nature élastique du matériel biologique étudié.

Ce broyage a été réalisé dans un volume d'eau distillée préalablement établi en fonction du poids moyen des prélèvements et de la quantité de broyat nécessaire à l'inoculation des 70 cupules des galeries API.

En fonction de ces données, 35 mg de poids frais étaient broyés et dilués dans 4,5 cc d'eau distillée.

Toutes les pièces de biopsie ayant été pesées, un simple calcul nous permettait d'établir le volume d'eau distillée nécessaire à chaque prélèvement.

B - MESURE DES ACTIVITES ENZYMATIQUES EN nM/mg/h DE SUBSTRAT LIBERE

Nous avons établi précédemment la notation visuelle des activités selon une échelle de lecture s'échelonnant de 0 à 5.

Or, nous nous sommes aperçus que cette échelle ne pouvait être utilisée telle qu'elle pour une étude comparée des résultats. Il nous était, entre autre, impossible d'établir à partir de ces chiffres la valeur moyenne d'une activité enzymatique, obtenue à partir des prélèvements d'un même échantillon.

Pour pallier cet inconvénient, nous avons utilisé des évaluations spectrophotométriques et densitométriques obtenues par MONGET (215) : la quantité de naphtol libéré pour chacune des notes visuellement déterminées. Ces chiffres sont indiqués dans le paragraphe précédent.

Nous avons en notre possession, en plus de la quantité de naphtol libéré, tous les éléments nécessaires à la transformation en nM/mg/h, c'est-à-dire :

- la durée d'incubation : 3 heures pour les hydrolases et 1/2 heures pour les déshydrogénases
- le poids frais de chacun des prélèvements
- la quantité d'extrait enzymatique, déposée dans chaque cupule, soit 65 μ L (2 gouttes) pour les hydrolases et 33 μ L (1 goutte) pour les déshydrogénases.

Ces éléments nous permettent d'arriver aux valeurs suivantes, que nous utiliserons pour quantifier nos activités :

NOTES VISUELLES	HYDROLASES	DESHYDROGENASES
Traces	2	5,9
1	3,3	11,9
2	6,6	23,8
3	13,2	35,6
4	19,8	47,5
5	26,4 et plus	59,4 et plus

La note 5 est attribuée à une réaction d'intensité maximale atteignant la saturation visuelle, correspondant donc à la libération d'un minimum de 40 nM de naphtol. Il ne nous est pas possible de déterminer un éventuel surplus d'activité, et c'est pour cette raison que nous indiquons que cette valeur n'est pas limitative et peut être supérieure au chiffre de 26,4 nM/mg/h indiqué.

Le lecteur non averti de cette transformation pourrait être agréablement surpris de la précision de nos dosages.

Il s'agit là, bien que ces valeurs soient établies sur des données significatives (la quantité de naphtol libéré), d'un artifice indispensable à l'établissement et à la discussion de nos résultats.

TROISIEME PARTIE

RESULTATS ET COMMENTAIRES

Dans le cadre de cette étude, nous avons effectué et analysé près de 130 prélèvements. Seuls 70 d'entre eux ont été conservés, les autres ne correspondant pas aux critères anatomo-pathologiques requis. En effet, en ce qui concerne le psoriasis par exemple, l'aspect clinique des lésions cutanées, évocateur de cette affection, n'était pas confirmé à l'examen microscopique ou restait équivoque. De même, certaines proliférations cutanées n'étaient pas des naevi naevo-cellulaires.

Toutes ces biopsies ont été analysées dans le laboratoire de biologie de l'Institut National des Sciences Appliquées de Lyon que dirige le professeur LAVIOLETTE dont le concours nous a été précieux.

Lors de la lecture d'un premier lot de prélèvements, qui comportait l'ensemble des affections étudiées, nous avons observé l'absence totale d'activité des enzymes 21 à 30, c'est-à-dire :

- β D-xylosidase
- phosphodiesterase
- α D-fucosidase
- β D-fucosidase
- β L-fucosidase
- N-acétyl- α D-glucosaminidase
- lactosidase
- arylsulphatase
- α L-arabinosidase
- β D-cellobiosidase

Pour cette raison, ces activités n'ont pas été testées lors de l'analyse des biopsies suivantes.

Cette constatation est étonnante, en ce sens que plusieurs de ces enzymes existent au niveau de la peau humaine. C'est le cas, entre autres, de la phosphodiesterase étudiée dans l'épiderme par DE BERSAQUES (22), MIER et Coll. (210) ; de la N-acétyl- β D-glucosaminidase (49) ; des arylsulfatases (15,55,24).

Il est difficile d'établir la raison exacte de cette absence de réaction. Le matériel API pourrait être incriminé, mais c'est peu probable car des plaquettes d'un même lot avaient été utilisées pour l'étude d'un autre matériel biologique avec des réactions positives (54).

Il se pourrait que leurs activités au niveau cutané soient si faibles qu'elles ne peuvent être dosées semi-quantitativement par notre méthode. Si nous prenons le cas de la phosphodiesterase et de l'arylsulfatase, elles ont une activité épidermique respective de l'ordre de 10-20 $\mu\text{mol/h/g}$ de poids sec (217) et 1,3 nmol/min/g de poids frais (112). L'activité de ces deux enzymes est donc faible. Quant à la collobiosidase, on la retrouve essentiellement dans le règne végétal.

Nous étudierons en premier lieu les résultats obtenus au niveau de la peau saine témoin, puis ceux des prélèvements de psoriasis, de vitiligo, de naevus naevo-cellulaire et de naevo-carcinome.

I - ACTIVITES ENZYMATIQUES DE LA PEAU SAINE

Les 15 prélèvements qui forment cet échantillon ont été biopsés chez 15 personnes différentes, indemnes de toute affection dermatologique.

Il est utile de rappeler que ces dosages enzymatiques portent sur la peau totale et non sur l'épiderme seul. En effet, la profondeur des prélèvements atteignait le derme superficiel.

Nous rapporterons tout d'abord, aux vues des résultats obtenus, quelques remarques sur le mode de conservation et la dilution utilisée pour ensuite débattre des résultats à proprement parler.

A - REMARQUES

1 - Le mode de conservation

Comme nous le verrons ultérieurement, les résultats obtenus dans la population témoin sont homogènes d'un prélèvement à l'autre.

Cette homogénéité nous permet de tirer une conclusion : la fiabilité du mode de conservation et de la durée de celle-ci. Certaines biopsies ont été réalisées quelques jours seulement avant leur analyse ; d'autres 4 à 5 semaines auparavant. On s'aperçoit que cette différence dans le temps ne semble influencer au niveau des résultats.

Il paraît évident que des prélèvements stockés tardivement ou à une température insuffisante, donneraient des résultats discordants.

2 - La dilution utilisée

Comme nous l'indiquons dans la méthode, les prélèvements sont broyés au tube de Potter dans de l'eau distillée, à raison de 35 mg de poids frais pour 4,5 cc d'eau.

Cette dilution, établie arbitrairement en fonction de la quantité minimum d'extrait nécessaire à la révélation des activités enzymatiques étudiées, semble correcte. En effet, il apparaît dans les résultats que certaines réactions atteignent l'intensité maximale, correspondant à la saturation visuelle et à la libération, dans le cas des hydrolases, de 26,4 nm/mg/h ou plus de substrat. Une dilution trop importante aurait entraîné une amputation vers le haut de l'échelle de lecture.

B - LES RESULTATS

1 - L'homogénéité de la population témoin

a) Les hydrolases

Si l'on considère une même réaction enzymatique pour les 15 biopsies analysées, on constate que les variations d'activités d'un prélèvement à l'autre sont faibles. Dans le cas de la N-acétyl- β D-glucosaminidase par exemple, 13 prélèvements ont une activité égale à 3,3 nM/mg/h de substrat libéré, les deux autres à 2 nM/mg/h. Cette stabilité des résultats d'un matériel à l'autre se retrouve dans la majorité des réactions, et les variations observées sont modérées.

Qu'il s'agisse des phosphatases, des estérases-lipases, des glycosidases, des peptidases ou des protéinases, cette homogénéité des résultats est partout retrouvée.

b) Les déshydrogénases

Le problème est ici différent. Sur les quatre réactions que la méthode API nous a permis de mettre en évidence au niveau de la peau saine totale, deux ont des différences d'activités notables d'un échantillon à l'autre. Il s'agit de la glucose-6-phosphate déshydrogénase (caractère 63) et de la lactate déshydrogénase (caractère 66).

En ce qui concerne le G-6-PDH, nous avons révélé des activités s'échelonnant de 5,9 à 29,7 nM/mg/h pour une moyenne à 17 nM/mg/h. On retrouve, selon les prélèvements, toutes les valeurs intermédiaires, mais la moitié d'entre eux présente des activités glucose-6-phosphate déshydrogénases égales ou supérieures à 23,8 nM/mg/h.

Quant à la lactate déshydrogénase (LDH), nous constatons que son activité varie selon les 15 prélèvements de 5,9 à 35,6 nM/mg/h. Il faut cependant noter que chacune de ces valeurs extrêmes n'est retrouvée que dans un prélèvement, et que la moyenne de l'activité LDH est égale à 16,6 nM/mg/h.

Ces différences ne sont vraisemblablement pas liées à des problèmes techniques, car nous la retrouverions dans d'autres réactions. Ces constatations pourraient peut-être s'expliquer par la localisation cutanée de chacune de ces deux déshydrogénases ; la G-6-PDH étant plus importante au niveau des épidermes épais, celui de la plante des pieds par exemple (136), et la lactate déshydrogénase dans les glandes sébacées et la partie haute de l'épiderme (135). Les données bibliographiques (136,165,325,328) ne permettent pas de trouver une explication.

Peut être s'agit-il tout simplement de variations physiologiques normales d'un individu à l'autre. Ceci ne peut s'expliquer par une différence de localisation des biopsies, ayant toutes été pratiquées au même endroit.

c) L'activité enzymatique totale

L'"activité enzymatique totale" de chaque prélèvement est obtenue en sommant l'ensemble des activités révélées. Cette notion d'activité enzymatique totale (A.E.T.) est discutable car elle confond en une seule valeur les activités d'enzymes dont le rôle biologique est totalement différent. Cette notion d'A.E.T. n'a d'autre prétention que de fournir une estimation globale de l'intensité de réponse de chaque matériel prélevé, et c'est en ce sens qu'elle reste intéressante.

Elle avait d'ailleurs été utilisée par NARDON et Coll. pour la différenciation des différentes lignées lymphoblastoïdes humaines issues de lymphomes de BURKITT (227).

Les 15 peaux saines de l'échantillon témoin ont donc une activité enzymatique totale variant de 168 à 221 nM/mg/h, pour une moyenne à 182 nm/mg/h.

Nous rapportons dans la Figure 1 l'A.E.T. de chacune des biopsies témoins et nous constatons que celle-ci varie relativement peu d'un matériel à l'autre.

Ces premières constatations nous permettent déjà de tirer deux conclusions globales :

- La reproductibilité de la méthode utilisée
- L'homogénéité de la population témoin.

2 - Réactions non révélées

Mises à part les caractères 21 à 30 que nous avons évoqués au début de ce chapitre, d'autres activités enzymatiques n'ont pas été mises en évidence au niveau de la peau saine, ce qui ne signifie pas bien sûr qu'elles en soient absentes.

Aucune des 15 biopsies que nous avons étudiées n'a révélé les caractères que nous allons maintenant citer. On y trouve des hydrolases et des déshydrogénases.

- Lipase (caractère 5)
- Trypsine (C. 9)
- Chymotrypsine (C.10)
- α D-galactosidase (C.13)
- β D-galactosidase (C.14)
- α D-glucosidase (C.16)
- β D-glucosidase (C.17)
- α D-mannosidase (C.19)
- α L-fucosidase (C.20)
- L-pyrrolidonyl-2-naphtylamidase (C.32)
- L-hydroxyproline-2-naphtylamidase (C.35)
- α L-acide aspartique-2-naphtylamidase (C.38)
- N-benzoyl-L-leucine-2-naphtylamidase (C.42)
- L-méthionine-2-naphtylamidase (C.45)
- glycyl-L-proline-2-naphtylamidase (C.48)
- L-séryl-L-tyrosine-2-naphtylamidase (C.50)
- N-CBZ-L-arginyl-4-méthoxy-2-naphtylamidase (C.51)
- α -glycérophosphate déshydrogénase (C.64)
- Isocitrate déshydrogénase (C.65)
- Succino déshydrogénase (C.69)
- Xanthine oxydase (C.70)

Fig.1 : ACTIVITES ENZYMATIQUES TOTALES DES PRELEVEMENTS DE L'ECHANTILLON TEMOIN



En plus de ces 21 caractères, nous avons constaté que trois activités enzymatiques s'étaient révélées positives, mais à des taux très faibles, de l'ordre de 2 nM/mg/h et dans un petit nombre de prélèvements. Il s'agit de :

- L-valine-2-naphtylamidase (C.7), observée dans deux prélèvements
- L-cystine-2-naphtylamidase (C.8), dans une biopsie
- α L-acide glutamique transpeptidase (C.41), dans deux prélèvements.

En les regroupant par "familles", nous allons essayer de déterminer pour quelques unes de ces enzymes du moins, des raisons susceptibles d'expliquer leur absence et qui peuvent être schématiquement de trois ordres :

- La non existence de certaines d'entre elles au niveau de la peau humaine.
- Leur localisation au niveau de certaines structures cellulaires qui ne peuvent être dissociées par un simple broyage au tube de Potter.
- Une si faible activité qu'elle ne peut être mise en évidence par la méthode que nous utilisons, et il s'agit dans la plupart des cas de l'hypothèse la plus probable.

a) La lipase

La limite entre estérase et lipase reste très floue. Il est admis que la chaîne aliphatique de l'ester doit comporter au minimum 14 carbones pour que l'hydrolyse soit spécifique d'une activité lipasique. Par ailleurs, il est généralement constaté que plus la chaîne carbonée de substrat au naphthol est longue, plus l'activité estérasique décelée est faible. RAVIN et SELIGMAN font la même observation en ce qui concerne la lipase pancréatique sur les substrats au naphthol, lorsque la chaîne aliphatique augmente de 12 à 18 carbones (263).

Il se pourrait que le caractère 5, correspondant à l'activité lipasique, ne mette en évidence qu'une activité estérasique

par manque de spécificité du substrat. Comme il s'agit d'une chaîne longue, supérieure à 14 carbones, il se pourrait que l'activité qui devrait être mise en évidence par ce caractère soit trop faible, par les raisons que nous avons évoquées antérieurement, pour être révélée par la méthode API.

b) Les glycosidases

Les 5 glycosidases non révélées sont toutes présentes au niveau de la peau humaine et ont été, entre autres, étudiées par OHKAWARA et Coll. (239), qui utilisaient des substrats au nitrophénol ou à la méthylumbelliférone. Ces enzymes ont des activités à peu près semblables, de l'ordre de 0,65 nM/min/mg de protéines. D'autre part, l'activité α -L fucosidase a été quantifiée par BUTTERWORTH et GUY dans les fibroblastes (47).

L'activité de ces enzymes au niveau de la peau saine doit être faible, ce qui expliquerait que nous n'avons pas pu les doser, car la plupart d'entre elles se sont révélées positives, en particulier dans les proliférations tumorales, bénignes ou malignes, comme nous le verrons ultérieurement.

c) Les protéases : amino-peptidases et protéinases

- Quatre activités protéinasiqes n'ont pas été mises en évidence : la trypsine (caractère 9), le chymotrypsine (C.10) le N-benzoyl-L-leucine-2-naphtylamidase (C.42) et la N-CBZ-L-arginyl-4-méthoxy-2-naphtylamidase (C.51).

La trypsine et la chymotrypsine sont les représentants les plus étudiés de ce groupe (93,264).

La chymotrypsine manifeste une action endopeptidasiq-ue, amidasiq-ue, estérase, mais peut également jouer le rôle d'une exopeptidase. Le caractère 10 utilise le N- α -benzoyl-DL-phénylalanine-2-naphtylester comme substrat qui détériore la propriété estérolytique de l'enzyme (264). On en déduit donc que cette propriété n'est pas mise en évidence au niveau de la peau saine, à l'inverse de l'activité amidasiq-ue de l'enzyme.

- Sur les 9 caractères peptidasiques, 6 d'entre eux sont nuls et 3, comme nous l'avons déjà noté, présentent une très faible activité dans un petit nombre de prélèvements, entre autre la γ L-acide glutamique transpeptidase (γ GT). Utilisant le γ -L-glutamyl-2-naphtylamide comme substrat (242), la γ GT n'hydrolyse pas les autres naphtylamides. Cette enzyme a été étudiée par plusieurs auteurs au niveau de l'épiderme et des follicules pileux (56,110,111), plus récemment par OGAWA et GOLDSMITH (237). Nous avons noté pour l'un de nos prélèvements une activité à 3,3 nM/mg/h de poids frais, ce qui est faible, et expliquerait le fait que nous ne l'ayons pas retrouvé dans les autres biopsies.

d) Les déshydrogénases

Nous avons constaté des activités nulles pour 4 déshydrogénases, c'est-à-dire :

- L' α -glycérophosphate déshydrogénase (C.64) dévie la glycolyse vers la synthèse des acides gras. Son activité a été quantifiée par ADACHI et YAMASAWA chez le primate (3). Ces auteurs concluaient qu'elle était beaucoup plus basse dans l'épiderme et ses annexes, que celle des autres enzymes participant à la glycolyse. En effet, ils notaient au niveau de l'épiderme une activité à 100 nM/h/kg de poids sec. Celle-ci, par contre, est environ 10 fois plus élevée dans les glandes sébacées et sudorales, soit 800 à 1100 nM/h/kg de poids sec.

Cette très faible activité explique vraisemblablement le fait qu'elle se soit révélée négative ; leurs résultats sont en effet exprimés en kilos de poids sec.

- L'isocitrate (C.65) et la succino déshydrogénase (C.69), toutes deux du cycle tricarboxylique de KREBS. CRUICKSHANK et Coll. ont montré que l'activité de l'isocitrate déshydrogénase était de $1,25 \pm 0,17$ M/h/Kg de poids sec dans l'épiderme (67). Pour ce qui concerne la succino-déshydrogénase, la localisation intramitochondriale expliquerait peut-être son absence.

- La xanthine déshydrogénase.

3 - Les activités enzymatiques révélées par la méthode API

Nous avons relevé 33 réactions positives qui se répartissent de la façon suivante :

- 29 hydrolases
- 4 déshydrogénases.

A été établie, pour chaque réaction, la moyenne des activités observées pour les 15 prélèvements de peau saine témoin, ainsi que l'intervalle de confiance de chacune d'elles pour un risque de 0,05. Ces résultats sont réunis dans le tableau 16. Nous avons également rapporté dans ce même tableau les valeurs minimales et maximales de chaque réaction. De plus, nous avons représenté ces différentes activités enzymatiques sous la forme d'un histogramme (Figure 2). Celui-ci représente la réponse type d'un prélèvement de peau saine telle que nous l'a révélée la méthode API.

Au premier abord, on constate que toutes les familles d'enzymes sont représentées, qu'il s'agisse des phosphatases, des estérases, des glycosidases, protéases et déshydrogénases. C'est ainsi que nous analyseront nos résultats, en essayant de les comparer aux données bibliographiques.

a) Les phosphatases

- La phosphatase alcaline (C.2) est celle dont l'activité est la plus faible, de l'ordre 2,9 nM/mg/h de substrat libéré. Il est connu que l'activité phosphatase alcaline est plus élevée dans les vaisseaux papillaires, moindre dans la couche granuleuse et faible dans les cellules de la couche basale (175). Nous n'avons pas retrouvé sur cette enzyme de données quantitatives.

- Nos résultats confirment le fait que la phosphatase acide est l'hydrolase dont l'activité cutanée est la plus élevée. Cette enzyme montre une activité très importante dans toutes les peaux saines étudiées. Parmi toutes les enzymes révélées dans cet échantillon, c'est celle dont l'activité est la plus forte. De plus, si l'on a relevé une moyenne à 24,5 nM/mg/h, il faut noter que 11 des 15 prélèvements de peau saine ont présenté une activité correspondant à la saturation visuelle, c'est-à-dire à la libération enzymatique de 40-50 nM de naphthol ou plus, ou encore à 26,4 nM/mg/h et plus. Il aurait été possible de quantifier ce surplus d'activité, que nous ne pouvions visuellement déterminer, à partir de dilutions successives. Pour cette raison, il est non seulement probable mais certain que l'activité réelle de la phosphatase acide est très supérieure au chiffre que nous avons indiqué.

Il est difficile d'établir une comparaison chiffrée avec les données de la littérature. Cependant, CLAUSEN et Coll. ont trouvé dans la peau totale une activité à 13,15 nmol/min/mg de protéines (58), et OCKERMAN, 7,71 nmol/min/mg de protéines (233). Les travaux de IM et HOOPES révélaient une activité phosphatase acide à 1,66 μ M/mg/h (152).

- La phosphoamidase, à pH optima acide, est difficilement distinguable des phosphatases non spécifiques, capables également d'hydrolyser le naphthol-AS-BI phosphodiamide. Dans le cas présent, il semble que cette distinction se soit réalisée, la phosphoamidase ayant montré une activité importante mais inférieure à celle de la phosphatase acide, de l'ordre de 12,3 nM/mg/h. La caractérisation la plus spécifique est obtenue dans une gamme de pH comprise entre 5 et 6 ; 5,4 dans la méthode utilisée (46).

b) Les estérases

Comme nous le faisons déjà remarquer, plus la chaîne carbonée de substrat au naphthol est courte, plus l'activité estérasi- que décelée est forte.

Nos résultats confirment cette observation. En effet, l'activité des chaînes courtes ayant au maximum 4 carbones (caractère

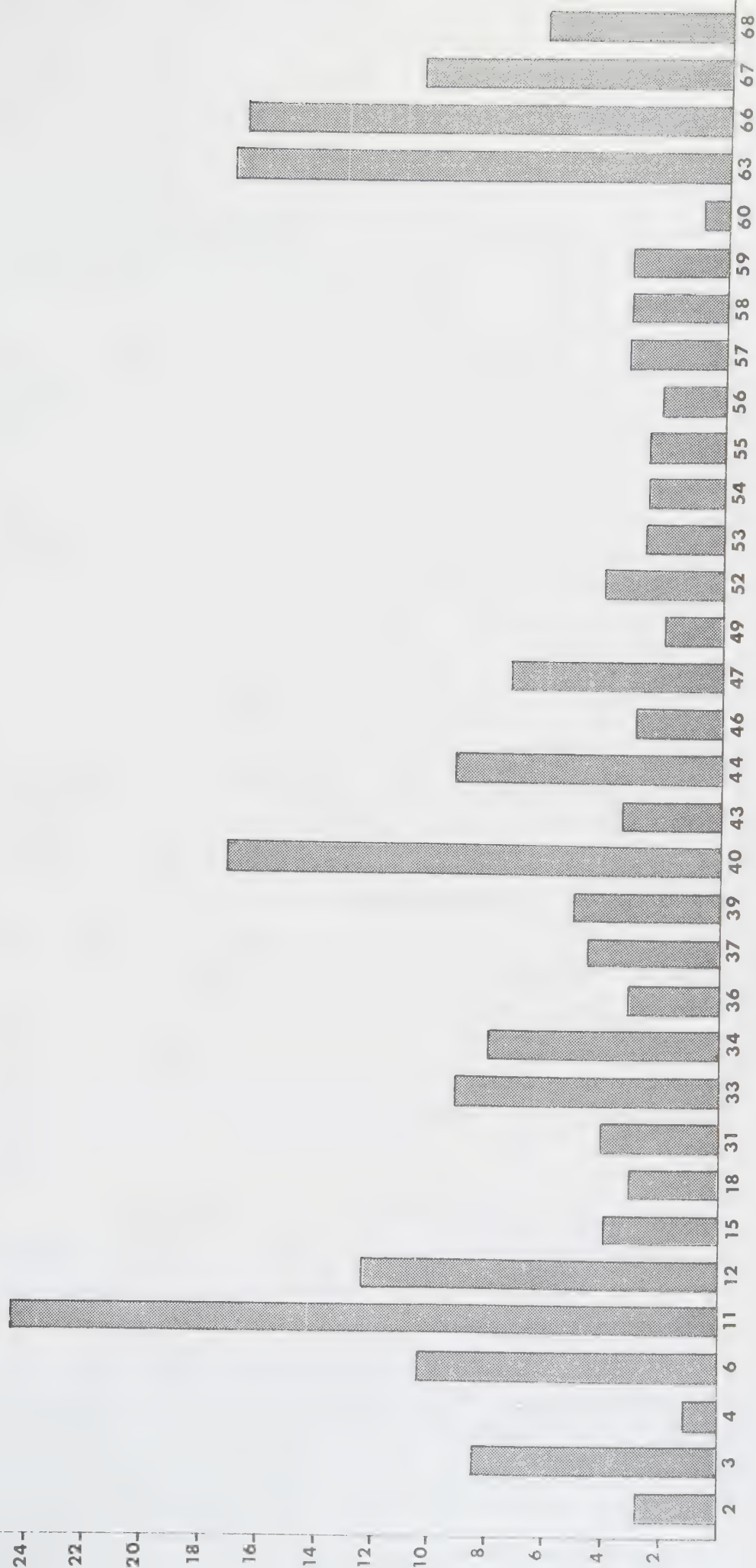
N°	ACTIVITES ENZYMATIQUES	M $\pm$ om avec $\alpha = 0,05$	Min.	Max.
2	Phosphatase alcaline	2,8 $\pm$ 0,3	2,0	3,3
3	Estérase (c4)	8,5 $\pm$ 1,9	6,6	16,5
4	Estérase-lipase (c8)	1,2 $\pm$ 0,5	0	2,0
6	L-leucine-2-naphtylamidase	10,3 $\pm$ 2,2	6,6	19,8
11	Phosphatase acide	24,5 $\pm$ 1,7	19,8	26,4 et +
12	Phosphoamidase	12,3 $\pm$ 1,8	6,6	19,8
15	β D-glucuronidase	3,9 $\pm$ 0,8	2,0	6,6
18	N-acétyl- β D-glucosaminidase	3,1 $\pm$ 0,2	2,0	3,3
31	L-tyrosyl- β -naphtylamidase	4,1 $\pm$ 0,8	2,0	6,6
33	L-phénylalaninyl- β -naphtylamidase	9,2 $\pm$ 1,5	6,6	13,2
34	L-lysyl-naphtylamidase	8,0 $\pm$ 1,5	6,6	13,2
36	L-histidyl-naphtylamidase	3,1 $\pm$ 0,5	0	5,0
37	L-glycyl-naphtylamidase	4,5 $\pm$ 0,5	3,3	6,6
39	L-arginyl-naphtylamidase	5,0 $\pm$ 0,8	3,3	6,6
40	DL-alanyl-naphtylamidase	17,1 $\pm$ 1,7	13,2	19,8
43	S-benzoyl-L-cystéine-naphtylamidase	3,3 $\pm$ 0,3	2,0	5,0
44	Chymotrypsine	9,0 $\pm$ 1,6	6,6	13,2
46	Glycyl-glycine-L-naphtylamidase	3,0 $\pm$ 0,3	2,0	3,3
47	Glycyl-L-phénylalanine-naphtylamidase	7,2 $\pm$ 1,0	6,6	13,2
49	L-leucyl-glycine-naphtylamidase	1,9 $\pm$ 0,9	0	6,6
52	L-glutamine- β -naphtylamidase	3,9 $\pm$ 0,6	2,0	5,0
53	L-glutamyl-naphtylamidase	2,5 $\pm$ 0,3	2,0	3,3
54	L-isoleucine-naphtylamidase	2,3 $\pm$ 0,5	0	3,3
55	L-ornithine-naphtylamidase	2,3 $\pm$ 0,5	0	3,3
56	L-proline-naphtylamidase	2,2 $\pm$ 0,6	0	3,3
57	L-sérine-naphtylamidase	3,1 $\pm$ 0,6	2,0	5,0
58	L-thréonine-naphtylamidase	3,1 $\pm$ 0,6	2,0	5,0
59	L-tryptophane-naphtylamidase	3,1 $\pm$ 0,6	2,0	5,0
60	NCBZ-glycylglycine-L-arginine- β -naphtylamidase	0,8 $\pm$ 0,9	0	6,6
63	Glucose-6-phosphate déshydrogénase	17,0 $\pm$ 4,9	5,9	29,7
66	Lactate déshydrogénase	16,6 $\pm$ 4,3	5,9	35,6
67	Malate déshydrogénase	10,6 $\pm$ 1,8	5,9	17,8
68	6-phosphogluconate-déshydrogénase	6,3 $\pm$ 2,3	0	11,9

TABLEAU 16 : VALEURS MOYENNES DES ACTIVITES ENZYMATIQUES DE L'ECHANTILLON TEMOIN
en NM/mg/h DE SUBSTRAT LIBERE (N = 15).

30 nM/mg/h

Fig. 2 : VALEURS MOYENNES DES DIFFERENTES ACTIVITES ENZYMATIQUES DE L' ECHANTILLON

TEMOIN (exprimées en nM/mg/h de substrat libéré).



3) est la plus élevée, 8,5 nM/mg/h ; celle des chaînes à 8 carbones est beaucoup plus faible, 1,20 nM/mg/h, pour être nulle dans les chaînes longues.

L'attaque des esters du 2-naphtol à chaîne égale ou inférieure à 10 carbones caractérise les estérases non spécifiques dont la localisation au niveau de la peau humaine a été étudiée par MONTAGNA (218), puis par JARRETT dans les cellules dendritiques (157).

Utilisant le 4-MU palmitate comme substrat, MIER et VAN DEN HURK ont trouvé dans l'épiderme du cobaye une activité estérasique à 5 nmol/min/g de substrat libéré (210).

c) Les glycosidases

Deux enzymes de ce groupe ont été mises en évidence : la β D-glucuronidase (C.15) et la N-acétyl- β D-glucosaminidase (C.18). Elles présentent toutes deux des activités semblables, bien que celle de la β D-glucuronidase soit très légèrement supérieure, de l'ordre de 4 nM/mg/h. Cette enzyme, comme la phosphatase acide, est un des principaux marqueurs lysosomiques (85).

Sur le plan méthodologique, il faut noter que la spécificité des substrats au naphtol, bien qu'étroite, n'est pas absolue. Des réserves ont déjà été émises concernant celle des glycosidases (manque de spécificité lié à la ressemblance structurale des oses (222) qui constitue le glycone et s'appliquent également à ces substrats synthétiques (12).

Les glycosidases ont été étudiées par de nombreux auteurs. OHKAWARA et Coll. ont dosé l'activité de 10 d'entre elles dans l'épiderme humain (239). Mise à part la β D-mannosidase qui ne se trouve pas dans les galeries API, les activités les plus élevées trouvées par ces auteurs, correspondent à celles qui ont été révélées. Ils constatent cependant, que celle de la N-acétyl- β D-glucosaminidase est beaucoup plus élevée que l'activité de la β D-glucuronidase, ce qui confirme la plupart des travaux (108,211-235), mais que nous n'avons mis en évidence dans aucun de nos prélèvements.

Utilisant la même méthode au niveau de l'épiderme sain et non sur la peau totale, THIVOLET et Coll. n'ont pas relevé de différences notables entre la β D-glucuronidase et le N-acétyl- β D-glucosaminidase (303).

d) Les protéases

Si la fonction estérasique de la chymotrypsine n'est pas mise en évidence (caractère 10), nous constatons par contre la présence de son activité amidasique à 9 nM/mg/h. (caractère 44). Le substrat utilisé, le glutaryl-L-phénylalanyl-2-naphtylamide permet également de doser des enzymes ayant des propriétés voisines de la chymotrypsine, appelées par les anglo-saxons "chymotrypsin-like".

Ce substrat est plus stable que le N-benzoyl-L-phénylalanyl-2-naphtylester, employé pour mettre en évidence la fonction estérasique de l'enzyme. Peut-être est-ce pour cette raison que cette dernière n'a pas été révélée ?

L'activité amidasique de la chymotrypsine est la seule protéinase positive.

Les galeries API-ZYM offrent la possibilité de doser un grand nombre d'amino-peptidases, et nous constatons que 22 d'entre elles ont été révélées. Ce groupe d'enzymes est étudié depuis peu au niveau de la peau, mais la plupart des travaux portent en fait sur une seule, la leucine-aminopeptidase, puisque les auteurs utilisent le L-leucyl- β -naphtylamide comme substrat et qu'ils dénomment cette activité : arylamidase (102,209). Les travaux de DE BERSAQUES ont porté cependant sur un ensemble plus étendu d'amino-peptidases (23-24).

Il est, de ce fait, difficile d'établir une comparaison avec nos résultats et ceux de la littérature.

La DL-alanine-2-naphtylamidase (caractère 40) est celle dont l'activité est la plus importante, avec une moyenne à 17,1 nM/mg/h, et plus de la moitié des prélèvements de peau saine atteignait 20 nM/mg/h. Il est à noter que dans les lysosomes de foie

de rat, il existe une arylamidase qui hydrolyse préférentiellement le L-arginyl-2-naphtylamide (substrat 39), alors que l'arylamidase isolée de la fraction microsomale est plus active sur le L-alanyl-2-naphtylamide que nous venons d'évoquer (189). Bien qu'aucun travail d'enzymologie cutanée n'aborde ce détail, rien n'empêche qu'il en soit de même dans les lysosomes de la peau humaine. Une L-alanyl-2-naphtylamidase a également été caractérisée chez de nombreuses bactéries (18). La L-arginine-2-naphtylamidase (C.39) présente une activité quatre fois moindre que celle de la L-alanine-2-naphtylamidase (C.40), c'est-à-dire 5 nM/mg/h.

La leucine amino-peptidase est la plus connue de ce groupe d'enzymes encore mal défini au niveau de l'épiderme. Nous lui avons trouvé une activité à 10,3 nM/mg/h, bien qu'un de nos prélèvements ait atteint 20 nM/mg/h. Ce chiffre est très inférieur à ceux notés par DE BERSAQUES, 6,3 μ mol/min/g de poids sec (23), et ROELFZEMA et Coll. avec 290 nmol/min/g de poids frais (269). Il s'agit cependant, après la L-alanine-2-naphtylamidase, de l'amino peptidase la plus active.

Bien que cette enzyme ait une préférence pour la leucine, elle ne se limite pas à l'hydrolyse de la leucine N-terminale des L-leucylpeptides, mais peut également être active sur les L-alanyl-peptides, sur des aminoacides amides et sur des arylamides. Il existe donc d'autres substrats capables de révéler une activité leucine amino peptidasique : c'est le cas de la L-leucyl-glycyl (substrat 49). Nous constatons dans ce cas que l'activité de cette enzyme est alors beaucoup plus faible, 1,9 nM/mg/h en moyenne, sans jamais dépasser 6,6 nM/mg/h. Ceci confirme le fait que cette enzyme ait une préférence pour la leucine.

L'activité aminopeptidase ou arylamidase de type ocytocinase peut être mesurée avec le L-cystyl-di-2-naphtylamide (substrat 8), au même titre qu'avec le S-benzyl-L-cystéil-2-naphtylamide (substrat 43) (339). Au niveau de la peau saine, la réaction 8 utilisant le premier substrat est négative, sauf dans un prélèvement où l'activité de type ocytocinase est égale à 2 nM/mg/h. Par contre, l'activité enzymatique, bien que faible, est constante avec le second substrat, de

l'ordre de 3,3 nM/mg/h. Il semble donc que l'affinité de l'ocytocinase soit plus importante avec le S-benzyl-L-cystéil-2-naphtylamide, tout au moins au niveau de la peau. Ceci est intéressant, d'autant plus qu'il ne semble pas que l'ocytocinase ait été étudiée dans la peau humaine.

Nous avons mis en évidence plusieurs autres activités amino-peptidasiques non encore étudiées au niveau de la peau.

La L-phénylalanine-2-naphtylamidase (caractère 33), la L-lysine-2-naphtylamidase (caractère 34) et la glycyl-L-phénylalanine 2-naphtylamidase (caractère 47) présentent des activités s'échelonnant de 7 à 9 nM/mg/h.

Il reste un groupe d'enzymes dont les réactions sont modérées et identiques ; les L-glutamyl, L-isoleucine et L-oranine naphtylamidases (caractères 53,54,55) dont l'activité est de 2,3 nM/mg/h ; les L-sérine, L-thréonine et L-tryptophane naphtylamidases (caractères 57,58,59) à 3,1 nM/mg/h. Peut-être existe-t-il pour chacun de ces deux groupes, un manque de spécificité des substrats et que ce soit la même enzyme qui réagisse ?

A propos de ce groupe d'enzymes, se pose un problème technique lié aux substrats. En effet, les aminoacides arylamidases hydrolysent préférentiellement les substrats chromogènes tels que les aminoacides naphtylamides. Mais ces substrats peuvent être partiellement hydrolysés par des amino-peptidases vraies, et ne présentent pas une spécificité marquée. Le degré d'hydrolyse dépend de l'acide aminé utilisé mais aussi du groupement naphtylamide, qui serait en fait le plus influent (246).

Ainsi, ces substrats ont une large spécificité, de même que les enzymes qui les hydrolysent. Les données de la littérature ont montré qu'il est impossible de classer ces caractères en groupes homogènes pour n'en conserver que les éléments les plus représentatifs. Chaque naphtylamide est capable de se comporter différemment des autres selon l'échantillon biologique auquel on s'adresse.

Comme on ne connaît ni le nombre, ni le type d'arylamidases contenues dans un extrait brut, et que les spécificités de ces enzymes sont souvent différentes, chaque test peut contribuer à apporter sa propre information et c'est en ce sens que nos résultats sont intéressants.

e) Les déshydrogénases

Nous avons mis en évidence quatre activités enzymatiques :

- La glucose-6-phosphate déshydrogénase (G-6PDH) et la 6-phosphogluconate déshydrogénase (6-PGDH), du shunt des pentoses.
- La lactate déshydrogénase (LDH) qui catalyse la dernière étape de la voie d'EMBDEN-MEYERHOF.
- La malate déshydrogénase (MDH) du cycle de KREBS.

Nous constatons que l'activité de la G-6PDH (caractère 63), 17 nM/mg/h, est trois fois supérieure à celle de la 6-PGDH (caractère 68), 6,3 nM/mg/h. Ces résultats sont en rapport avec ceux de la littérature. En effet, IM et ADACHI notaient que l'activité de la G-6-PDH était environ deux fois plus élevée que celle de la 6-PGDH, et que leur distribution au niveau de la peau était comparable (151). Le rapport d'activité entre ces deux enzymes est identique aux résultats de HERSHEY, dont les dosages ont été effectués chez l'homme dans la région inguinale, puisqu'il trouvait 0,680 M/kg/h pour la G-6-PDH et 0,278 M/kg/h pour la 6-PGDH (137).

Des 4 déshydrogénases révélées par la méthode API, la G-6-PDH présente l'activité la plus importante, bien que comparable à celle de la lactate déshydrogénase. Nos valeurs restent cependant inférieures à celles de la littérature.

La lactate déshydrogénase (caractère 66) montre au niveau de la peau saine de la région deltoïdienne une moyenne d'activité à 16,6 nM/mg/h ; la plus élevée que nous ayons relevée, dans un seul prélèvement, a été de 35,6 nM/mg/h de substrat libéré.

Selon plusieurs auteurs, dont IM et ADACHI, ainsi que HERSHEY, la lactate déshydrogénase est une des enzymes avec la phosphatase acide, les plus actives de la peau (137,150). C'est d'ailleurs ce que nous constatons dans nos résultats, où après les phosphatases acides, prédominent trois enzymes dont la lactate déshydrogénase.

Nous retrouvons dans la littérature des dosages sensiblement identiques entre eux, de 14,61 à 27,30 M/kg/h pour HERSHEY selon la localisation des prélèvements (137). Une étude de YAMASAWA et Coll. indiquait une activité à 21,5 M/kg/h (347). Quant à IM et ADACHI, ils trouvèrent chez le singe rhésus, une activité lactate déshydrogénase à 14,5 M/kg/h, au niveau de l'épiderme.

La malate déshydrogénase est la seule enzyme du cycle de KREBS que nous ayons mise en évidence, avec une activité inférieure aux deux précédentes, de l'ordre de 10,6 nM/mg/h. Sur les 15 prélèvements étudiés, 10 présentaient une activité à 11,9 nM/mg/h. Dans une étude portant sur 63 sujets hommes et femmes, de 1 mois à 90 ans, YAMASAWA et Coll. relevaient l'activité moyenne de la MDH à 18,1 M/kg/h, c'est-à-dire légèrement plus faible que celle de la LDH, ce qui est en rapport avec nos résultats (347).

C - CONCLUSIONS

L'examen de ce premier échantillon nous permet d'établir plusieurs remarques, tant en ce qui concerne la méthode et les prélèvements d'une part, que les résultats d'autre part.

* Deux points fondamentaux se dégagent de cette première analyse :

- l'homogénéité de la population témoin
- la reproductibilité de la méthode utilisée.

Ces deux éléments sont indissociables : une méthode non reproductible nous aurait donné des résultats non homogènes.

* Nous avons mis en évidence 33 activités comprenant des phosphatases, des estérases non spécifiques, des glycosidases, des protéases et des déshydrogénases.

Nous avons expliqué dans le dernier paragraphe consacré à la méthode, pour quelle raison nous avons utilisé les nM/mg/h de substrat libéré.

Les activités observées dans la peau saine sont habituellement très inférieures à celles de la littérature. Ceci n'est pas étonnant, la méthode API étant semi-quantitative, ne peut atteindre la précision de méthodes plus lourdes, histochimiques en particulier.

Néanmoins, et il s'agit d'une constatation fondamentale, la proportion des taux d'activités enzymatiques les uns par rapport aux autres est en tout point semblable à celle de la littérature. En effet :

- Nos résultats confirment le fait que la phosphatase acide est l'hydrolase acide dont l'activité cutanée est la plus élevée.

- Les glycosidases révélées, sont celles dont le taux d'activité, déterminé par des méthodes histochimiques, est le plus important ; entre autre la β D-glucuronidase et la β D-glucosaminidase.

- Nous avons mis en évidence un grand nombre de caractères protéasiques, non étudiés jusqu'à présent, mise à part la leucine aminopeptidase.

- Les proportions observées entre la G-6-PDH et la 6-PGDH sont identiques à celles de la littérature. D'autre part, nous confirmons la donnée que la glucose-6-phosphate et la lactate déshydro-

génase présentent, dans le shunt des pentoses et la voie de la glycolyse, les réactions les plus intenses.

Nous concluons que la méthode API est très intéressante, de part l'éventail des caractères qu'elle offre et, que tout en étant reproductible, elle est suffisamment sensible pour mettre en évidence de faibles variations d'activités.

II - ACTIVITES ENZYMATIQUES DE LA PEAU APPAREMMENT SAIN ET DE LA LESION PSORIASIQUE

Les résultats que nous avons obtenus dans ce domaine permettent de tirer deux conclusions. L'une encore discutée actuellement, l'autre acquise depuis longtemps déjà, à savoir que :

- L'activité enzymatique de la peau apparemment saine de psoriasis est comparable à celle de la peau saine témoin.

- La lésion psoriasique, comme dans toute hyperplasie épidermique, a une bien plus grande activité enzymatique que la peau normale. Nous l'avons observé à tous les niveaux, et plus particulièrement dans les déshydrogénases.

Nous allons analyser brièvement les résultats de la peau apparemment saine puis discuter ceux de la lésion psoriasique.

A - ACTIVITES ENZYMATIQUES DE LA PEAU APPAREMMENT SAIN ET DE PSORIASIS

1 - Réactions non révélées

En plus des réactions 21 à 30 dont nous avons évoqué l'absence en début de chapitre, nous constatons qu'il s'agit à quelques exceptions près, des mêmes activités que la peau saine témoin. Nous retrouvons l'absence des enzymes suivantes :

- Lipase (caractère 5)
- Trypsine (C.9)
- Chymotrypsine (C.10)

- α D-galactosidase (C.13)
- α D-glucosidase (C.16)
- β D-glucosidase (C.17)
- α D-mannosidase (C.19)
- α L-fucosidase (C.20)
- N-benzoyl-L-leucine-2-naphtylamidase (C.42)
- L-méthionine-2-naphtylamidase (C.45)
- L-séryl-L-tyrosine-2-naphtylamidase (C.50)
- N-CBZ-L-arginyl-4-méthoxy-2-naphtylamidase (C.51)
- α -glycérophosphate déshydrogénase (C.64)
- Isocitrate déshydrogénase (C.65)
- succino déshydrogénase (C.69)
- xanthine oxydase (C.70)

Nous plaçons dans ce même paragraphe, en plus des 16 réactions précédentes, des enzymes qui se sont parfois révélées positives mais dans quelques prélèvements seulement, et dont la moyenne d'activité était très faible, toujours inférieure à 1 nM/mg/h. Il s'agit des caractères suivants :

- L-cystine-2-naphtylamidase (ocytocinase) (C.8)
- β D-galactosidase (C.14)
- L-pyrrolidonyl peptidase (C.32)
- L-hydroxyproline-2-naphtylamidase (C.35)
- α L-acide aspartique-2-naphtylamidase (C.38)
- γ L-acide glutamique transpeptidase (C.47)
- glycyl-L-proline-2-naphtylamidase (C.48)
- L-proline-2-naphtylamidase (C.56)
- N-CBZ-glycyl-glycyl-L-arginine-2-naphtylamidase (C.60)

En analysant ces résultats, nous remarquons un fait intéressant. L'apparition, dans le peau apparemment saine de psoriasis, d'un plus grand nombre d'activités enzymatiques, même si les taux de celles-ci restent très modérés.

C'est le cas, entre autres, du caractère β D-galactosidase (C.14) qui apparait dans la peau saine témoin. Il en est de même de l'activité de type ocytocinase, L-cystine-2-naphtylamidase (C.8) observée à quatre reprises, pour un seul résultat positif dans les biopsies de l'échantillon témoin. Quelle que soit la nature de l'échantillon, peaux témoins ou apparemment saines de psoriasis, ces enzymes ont des activités identiques de l'ordre de 2 nM/mg/h.

Les caractères 32, 35, 38 et 48 sont mis en évidence dans un seul des quinze prélèvements de la population "peaux apparemment saines".

Il est impossible, pour l'heure, de tirer des conclusions devant des différences aussi peu marquées mais il était intéressant de noter cette tendance.

2 - Activités révélées

La peau apparemment saine de psoriasis présente, au niveau enzymatique, les mêmes caractéristiques que la peau saine témoin. Les activités révélées sont les mêmes dans les deux échantillons et à des intensités semblables.

Nous rapportons dans le tableau 17 les moyennes des réactions obtenues en les comparant à celle de l'échantillon témoin ; ainsi que l'intervalle de confiance de chacune d'elles pour un risque de 0,05.

La plupart des activités de peaux saines témoins sont supérieures à celles des peaux apparemment saines de psoriasis, en particulier pour les lactate et malate déshydrogénases.

Mises à part ces deux réactions, les différences sont minimales, et l'on peut admettre que les activités des deux populations sont analogues.

Cette notion est encore actuellement controversée. Les travaux de JARRETT montraient une activité phosphatase acide (167) et aryl sulphatase (164) accrues dans la peau psoriasique apparemment saine. Il suggérait, d'après ces résultats, qu'il en était de même de l'ensemble des hydrolases acides.

Par contre, nos résultats rejoignent ceux de MIER et VAN DEN HURK. Ils estiment que les hydrolases acides présentent une activité sensiblement identique dans les deux types de population (212). Il en est de même, selon HALPRIN et OHKAWARA (119), JONES et COLL. (168), des déshydrogénases.

B - ACTIVITES ENZYMATIQUES DE LA PLAQUE PSORIASIQUE

Les valeurs que nous observons vont dans le sens des données de la littérature, vers un accroissement important des activités, consécutif à un "turn over" cellulaire augmenté.

1 - Réactions non révélées

Leur nombre est moins important que celui des deux échantillons précédemment étudiés.

On retrouve les enzymes suivantes :

- Lipase (C.5)
- Trypsine (C.9)
- Chymotrypsine (C.10)
- α D-glucosidase (C.16)
- α D-mannosidase (C.19)
- α L-fucosidase (C.20)
- N-benzoyl-L-leucine-2-naphtylamidase (C.42)
- L-séryl-L-tyrosine-2-naphtylamidase (C.50)
- N-CBZ-L-arginyl-4-méthoxy-2-naphtyllamidase (C.51)
- α -glycérophosphate déshydrogénase (C.64)
- Isocitrate déshydrogénase (C.65)
- Succino déshydrogénase (C.69)
- Xanthine déshydrogénase (C.70)

TEMOINS	N°	ACTIVITES ENZYMATIQUES	PEAUX APPAREMMENT SAINES		
$M \pm \sigma_m$ $\alpha = 0,05$			$M \pm \sigma_m$ $\alpha = 0,05$	Min.	Max.
2,8 $\pm$ 0,3	2	Phosphatase alcaline	2,6 $\pm$ 0,5	0	3,3
8,5 $\pm$ 1,9	3	Estérase (c4)	9,1 $\pm$ 1,9	3,3	13,2
1,2 $\pm$ 0,5	4	Estérase-lipase (c8)	1,2 $\pm$ 0,5	0	2,0
10,3 $\pm$ 2,2	6	L-leucine	8,0 $\pm$ 2,2	3,3	16,5
0,2 $\pm$ 0,3	7	L-valine	1,0 $\pm$ 0,6	0	2,0
24,5 $\pm$ 1,7	11	Phosphatase acide	23,9 $\pm$ 2,6	9,9	26,4 et +
12,3 $\pm$ 1,8	12	Phosphoamidase	11,8 $\pm$ 2,0	3,3	16,5
3,9 $\pm$ 0,8	15	β D-glucuronidase	3,3 $\pm$ 0,5	2,0	6,6
3,1 $\pm$ 0,2	18	β D-glucosaminidase	2,5 $\pm$ 0,4	2,0	5,0
4,1 $\pm$ 0,8	31	L-tyrosyl	3,7 $\pm$ 0,8	2,0	6,6
9,2 $\pm$ 1,5	33	L-phénylalanine	7,8 $\pm$ 1,9	3,3	13,2
8,0 $\pm$ 1,5	34	L-lysyl	6,5 $\pm$ 1,5	3,3	13,2
3,1 $\pm$ 0,5	36	L-histidyl	3,1 $\pm$ 0,7	0	3,3
4,5 $\pm$ 0,5	37	L-glycyl	4,3 $\pm$ 0,9	2,0	6,6
5,0 $\pm$ 0,8	39	L-arginyl	4,4 $\pm$ 0,8	3,3	6,6
17,1 $\pm$ 1,7	40	DL-alanyl	14,9 $\pm$ 2,7	6,6	19,8
3,3 $\pm$ 0,3	43	S-benzoyl-L-cystéine	2,8 $\pm$ 0,4	2,0	5,0
9,0 $\pm$ 1,6	44	Chymotrypsine	8,2 $\pm$ 1,9	3,3	13,2
3,0 $\pm$ 0,3	46	Glycyl-glycine	1,5 $\pm$ 0,6	0	3,3
7,2 $\pm$ 1,0	47	Glycyl-L-phénylalanine	8,4 $\pm$ 1,7	3,3	13,2
1,9 $\pm$ 0,9	49	L-leucyl glycine	1,0 $\pm$ 0,5	0	2,0
3,9 $\pm$ 0,6	52	L-glutamine	3,7 $\pm$ 0,8	2,0	6,6
2,5 $\pm$ 0,3	53	L-glutamyl	2,0 $\pm$ 0,4	0	3,3
2,3 $\pm$ 0,5	54	L-isoleucine	2,1 $\pm$ 0,2	2,0	3,3
2,3 $\pm$ 0,5	55	L-ornithine	2,1 $\pm$ 0,2	2,0	3,3
2,2 $\pm$ 0,6	56	L-proline	0,6 $\pm$ 0,5	0	2,0
3,1 $\pm$ 0,6	57	L-sérine	2,3 $\pm$ 0,3	2,0	3,3
3,1 $\pm$ 0,6	58	L-thréonine	2,4 $\pm$ 0,3	2,0	3,3
3,1 $\pm$ 0,6	59	L-tryptophane	2,3 $\pm$ 0,3	2,0	3,3
0,8 $\pm$ 0,9	60	NCBZ-glycylglycine-L-arginine	0,6 $\pm$ 0,5	0	2,0
17,0 $\pm$ 4,9	63	G6PDH	10,6 $\pm$ 4,6	0	29,7
16,6 $\pm$ 4,3	66	LDH	13,8 $\pm$ 4,0	0	23,8
10,6 $\pm$ 1,8	67	MDH	7,9 $\pm$ 1,6	5,9	11,9
6,3 $\pm$ 2,3	68	6-PGDH	7,5 $\pm$ 3,1	0	23,8

TABEAU 17 : VALEURS MOYENNES DES ACTIVITES ENZYMATIQUES DE L'ECHANTILLON "PEAUX SAINES DE PSORIASIS" EN nM/mg/h DE SUBSTRAT LIBERE (N = 15).

On constate que la propriété estérolytique de la chymotrypsine n'est pas mise en évidence dans la plaque psoriasique, comme dans la peau apparemment saine de psoriasis et la peau témoin.

Il en est de même des 3 glycosidases précédemment citées, dont l'existence a été prouvée dans la peau saine (47-239), à fortiori dans le psoriasis où leur activité est nettement accrue, de l'ordre de 21 nmol/min/g pour l' α D-glucosidase et 37 nmol/min/g. de poids sec pour l' α D-mannosidase (212). Nos activités, rapportées en nM/mg/h, sont trop faibles pour être révélées par la méthode utilisée ; ce qui expliquerait que nous n'ayions pas pu les mettre en évidence.

Pour ce qui concerne l'isocitrate déshydrogénase, il est intéressant de noter que HALPRIN et OHKAWARA n'avaient pas trouvé d'augmentation significative dans le psoriasis, bien que cette enzyme soit une des réactions clefs du cycle de KREBS (119). Cette constatation confirme en tous points nos résultats. Nous remarquons là encore, que nos chiffres vont dans le sens des données de la littérature.

Un certain nombre de réactions se sont révélées positives dans quelques prélèvements, avec des activités qui varient de 2 à 3,3 nM/mg/h. Ces caractères sont les suivants :

- L-cystine-2-naphtylamidase (C.8)
- L-pyrrolidonyl peptidase (C.32)
- L-hydroxyproline-2-naphtylamidase (C.35)
- α L-acide aspartique-2-naphtylamidase (C.38)
- γ L-acide glutamique transpeptidase (C.41)
- L-méthionine-2-naphtylamidase (C.45)
- glycyl-L-proline-2-naphtylamidase (C.48)

Aucune de ces 7 réactions n'avait été trouvée dans notre échantillon témoin. Il est intéressant d'observer cette progression dans l'apparition des activités enzymatiques, au fur et à mesure que celles-ci augmentent. Même si ces caractères ne sont pas retrouvés dans tous les prélèvements de psoriasis, ils reflètent tout de même l'hyperactivité enzymatique propre à cette affection.

2 - Activité enzymatique totale de la lésion psoriasique

La Figure 3 correspond aux valeurs comparatives des activités enzymatiques totales des prélèvements de peaux apparemment saines et de lésions psoriasiques des 15 malades de notre étude.

L'A.E.T. nous donne un aperçu global des différents prélèvements et nous permet d'établir plusieurs remarques :

Nous constatons tout d'abord que les A.E.T. des biopsies de peaux psoriasiques apparemment saines peuvent varier du simple au triple, de 83,3 nM/mg/h pour le cas 1, à 222,5 pour le malade 4. Nous retrouvons entre ces deux extrêmes toutes les valeurs intermédiaires. Ces résultats sont plus disparates que ceux observés dans la peau saine témoin, les prélèvements ayant été réalisés au même endroit, la région deltoïdienne, dans les deux échantillons ; le mode de dosage étant le même, il est difficile d'expliquer ces disparités que nous n'avons pas notées dans l'échantillon témoin.

Il est actuellement établi que la peau apparemment saine de psoriasis présente certaines anomalies par rapport à la peau saine, entre autre un renouvellement cellulaire et un nombre de mitoses accru (26-259-275).

Ce fait, en lui même, pourrait peut être expliquer la plus grande disparité de cet échantillon. Nous n'avons pas trouvé de relation entre l'A.E.T., la durée d'évolution et le type de psoriasis.

Parmi les A.E.T. des lésions de psoriasis, s'en détachent quatre (malades 1, 7, 8 et 11) dont les valeurs sont inférieures aux autres.

Or, le premier malade avait été biopsé après trois jours de traitement par dermo-corticoïdes. Quant au cas n°7, il avait subi, avant d'être biopsé, plusieurs séries de traitement dont la dernière avait été interrompue une semaine avant l'intervention. Le malade 8 se traitait lui-même, et selon les besoins utilisait un traitement local kératolytique. Par contre, nous ne pouvons expliquer la faible AET du cas 11, inférieure de moitié à la valeur moyenne, 386 nM/mg/h.

Celui-ci n'avait plus été traité depuis l'apparition de son psoriasis 6 ans auparavant.

Il est donc intéressant de noter le rôle de la thérapeutique locale sur les activités enzymatiques qui tendent à diminuer.

A l'inverse les patients 3 et 10 ont interrompu leur thérapeutique respectivement, 10 jours et 1 semaine avant la biopsie. On constate alors que l'AET de leurs lésions est très importante.

3 - Réactions révélées

Nous rapportons dans la lésion psoriasique 37 caractères, alors que 33 d'entre eux avaient été mis en évidence dans l'échantillon témoin.

Dans la majorité des réactions on note un accroissement variable mais marqué des activités. Celui-ci est en moyenne de l'ordre de 100%, parfois plus, en particulier dans certaines amino-peptidases et déshydrogénases.

Le Tableau 18 réunit la moyenne de chacune des activités enzymatiques révélées pour les 15 lésions analysées.

Ces résultats sont rapportés sous la forme d'un histogramme correspondant à la réponse moyenne du psoriasis (Figure 4).

Nous avons constaté que les différences d'activités étaient modérées dans certaines réactions, entre la peau saine et le psoriasis. Nous avons donc conservé dans la Figure 5 les caractères les plus discriminatifs. Pour ce faire, nous avons considéré une marge d'erreur de 20%. Les activités de peau témoin et psoriasique d'un même caractère, qui se recoupaient, étaient supprimées. Les sept caractères non discriminatifs qui suivent ont ainsi été éliminés :

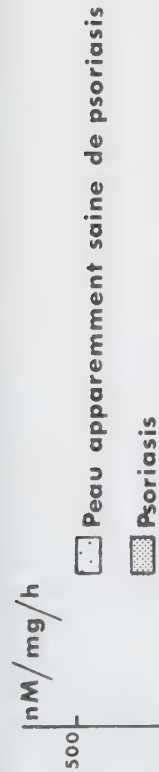
- Estérase (C.8)
- Phosphatase acide (C.11)
- N-acétyl- β D-glucosaminidase (C.18)

nM/mg/h
 500
 450
 400
 350
 300
 250
 200
 150
 100
 50

1
 2
 3
 4
 5
 6
 7
 8
 9
 10
 11
 12
 13
 14
 15

Peau apparemment saine de psoriasis
 Psoriasis

Fig.3: ACTIVITES ENZYMATIQUES TOTALES DES PRELEVEMENTS DE PEAUX APPAREMMENT SAINES ET DE LESIONS PSORIASIQUES en nM/mg/h de substrat libéré



- L-glycyl-2-naphtylamidase (C.37)
- DL-alanyl-2-naphtylamidase (C.40)
- L-glutamyl-2-naphtylamidase (C.53)
- L-proline-2-naphtylamidase (C.56)

La réaction phosphatase acide est maximale dans tous les prélèvements de psoriasis, correspondant à la saturation visuelle c'est-à-dire à 26,4 nM/mg/h ou plus. La valeur réelle de cette enzyme doit être très supérieure à celle que nous donnons, mais il nous est impossible de quantifier ce surplus d'activité, sauf par des dilutions successives. D'après MIER et VAN DEN HURK, la phosphatase acide triple dans le psoriasis par rapport à la peau saine, 2200 nmol/min/g pour 880 nmol/min/g (212).

Pour ce qui concerne la N-acétyl- β D-glucosaminidase, son accroissement d'activité dans le psoriasis est, selon ces mêmes auteurs, modéré. Elle passe de 130 à 170 nmol/min/mg (212). Nos valeurs sont très inférieures à celles de MIER et VAN DEN HURK mais restent dans les mêmes proportions et démontrent la faible augmentation de cette enzyme.

Nous allons étudier plus en détail les caractères discriminatifs de la lésion psoriasique.

a) Les phosphatases

- L'activité phosphatase alcaline triple par rapport à celle de l'échantillon témoin, pour arriver à 8,4 nM/mg/h. Elle augmente essentiellement dans les capillaires des papilles dermiques comme le montre la plupart des travaux (35,175). Nous n'avons pas retrouvé de valeurs chiffrées de son activité dans le psoriasis.

- La phosphoamidase révèle une activité importante 23,3 nM/mg/h de substrat libéré. Elle est en fait certainement beau-

coup plus élevée puisque 8 des 15 prélèvements arrivent à la saturation visuelle et atteignent donc un minimum de 26,4 nM/mg/h. Cette réaction double donc dans le psoriasis si ce n'est plus.

b) Les estérases

Nous avons déjà noté que l'activité estérase (C.3) n'était pas discriminative, son augmentation étant modérée. Ce n'est pas le cas de la réaction 4, estérase-lipase, dont l'activité est très basse dans le psoriasis, de l'ordre de 2 nM/mg/h. Neuf des quinze prélèvements ont présenté cette valeur mais quatre d'entre eux arrivent à 3,3 nM/mg/h, ce qui reste faible.

c) Les glycosidases

Les activités que nous avons constatées pour la β D-glucuronidase (C.15) et la β D-glucosidase (C.17), respectivement 6 et 2,1 nM/mg/h, sont très inférieures à celles retrouvées dans la littérature. L'ordre d'importance de nos résultats est cependant respecté puisque la β D-glucuronidase est supérieure à la β D-glucosidase comme le montrent MIER et VAN DEN HURK, avec des taux respectifs de 83 et 14 nmol/min/g de poids frais (212).

Ces auteurs constatent que l'activité β -glucosidase, parmi les hydrolases acides en général et les glycosidases en particulier, est celle dont le rapport d'augmentation est l'un des plus élevés dans le psoriasis. Son taux est multiplié par 9 par rapport au témoin. La β -glucuronidase, à l'inverse, est modérément accrue.

Nos conclusions abondent en ce sens puisque cette dernière passe de 4 à 6 nM/mg/h ; alors que la β -glucosidase non dosable dans la peau saine, révèle une activité de 2,1 nM/mg/h dans la lésion psoriasique.

Pour ce qui concerne la N-acétyl- β D-glucosaminidase dont nous avons dit que la réaction n'était pas discriminative, l'ac-



TEMOINS	N°	ACTIVITES ENZYMATIQUES	LESIONS	PSORIASIS	
$M \pm \sigma$ $\alpha = 0,05$			$M \pm \sigma$ $\alpha = 0,05$	Min.	Max.
2,8 $\pm$ 0,3	2	Phosphatase alcaline	8,4 $\pm$ 2,1	3,3	13,2
8,5 $\pm$ 1,9	3	Estérase (C4)	11,6 $\pm$ 2,1	6,6	19,8
1,2 $\pm$ 0,5	4	Estérase-lipase (C8)	2,0 $\pm$ 0,6	0	3,3
10,3 $\pm$ 2,2	6	L-leucine	17,3 $\pm$ 2,7	9,9	26,4 et +
0,2 $\pm$ 0,3	7	L-valine	4,4 $\pm$ 2,0	0	13,2
-	8	L-cystine	1,2 $\pm$ 0,6	0	3,3
24,5 $\pm$ 1,7	11	Phosphatase acide	26,4 $\pm$ 0,0	26,4 et +	
12,3 $\pm$ 1,8	12	Phosphoamidase	23,3 $\pm$ 1,9	19,8	26,4 et +
-	14	8D-galactosidase	1,2 $\pm$ 0,5	0	2,0
3,9 $\pm$ 0,8	15	8D-glucuronidase	6,0 $\pm$ 1,6	2,0	13,2
-	17	8D-glucosidase	2,1 $\pm$ 0,9	0	6,6
3,1 $\pm$ 0,2	18	8D-glucosaminidase	4,4 $\pm$ 0,9	2,0	6,6
4,1 $\pm$ 0,8	31	L-tyrosine	8,4 $\pm$ 2,4	3,3	19,8
9,2 $\pm$ 1,5	33	L-phénylalanine	21,0 $\pm$ 3,5	5,0	26,4 et +
8,0 $\pm$ 1,5	34	L-lysine	20,3 $\pm$ 3,2	5,0	26,4 et +
3,1 $\pm$ 0,5	36	L-histidine	5,8 $\pm$ 0,9	2,0	6,6
4,5 $\pm$ 0,5	37	L-glycine	6,2 $\pm$ 1,3	2,0	13,2
5,0 $\pm$ 0,8	39	L-arginine	18,7 $\pm$ 3,9	3,3	26,4 et +
17,1 $\pm$ 1,7	40	DL-alanine	24,4 $\pm$ 2,2	13,2	26,4 et +
3,3 $\pm$ 0,3	43	S-benzoyl-L-cystéine	10,5 $\pm$ 2,7	3,3	19,8
9,0 $\pm$ 1,6	44	Chymotrypsine	16,0 $\pm$ 2,6	6,6	26,4 et +
3,0 $\pm$ 0,3	46	Glycyl-glycine	10,8 $\pm$ 3,0	3,3	19,8
7,2 $\pm$ 1,0	47	Glycyl-L-phénylalanine	13,6 $\pm$ 2,3	3,3	19,8
1,9 $\pm$ 0,9	49	L-leucyl-glycine	5,8 $\pm$ 1,6	2,0	13,2
3,9 $\pm$ 0,6	52	L-glutamine	11,8 $\pm$ 3,1	5,0	19,8
2,5 $\pm$ 0,3	53	L-glutamyl	3,4 $\pm$ 1,0	0	6,6
2,3 $\pm$ 0,5	54	L-isoleucine	4,3 $\pm$ 0,9	3,3	6,6
2,3 $\pm$ 0,5	55	L-ornithine	4,8 $\pm$ 0,9	2,0	6,6
2,2 $\pm$ 0,6	56	L-proline	3,5 $\pm$ 1,0	0	6,6
3,1 $\pm$ 0,6	57	L-sérine	6,5 $\pm$ 1,7	2,0	13,2
3,1 $\pm$ 0,6	58	L-thréonine	6,6 $\pm$ 1,6	2,0	13,2
3,1 $\pm$ 0,6	59	L-tryptophane	6,2 $\pm$ 1,7	2,0	13,2
0,8 $\pm$ 0,9	60	NCBZ-glycylglycine-L-arginine	2,1 $\pm$ 1,0	0	5,0
17,0 $\pm$ 4,9	63	G6PDH	45,5 $\pm$ 7,8	6,6	26,4 et +
16,6 $\pm$ 4,3	66	LDH	48,2 $\pm$ 5,1	13,2	26,4 et +
10,6 $\pm$ 1,8	67	MDH	23,3 $\pm$ 4,4	3,3	13,2
6,3 $\pm$ 2,3	68	6-PGDH	36,8 $\pm$ 7,0	5,0	26,4 et +

TABEAU 18 : VALEURS MOYENNES DES ACTIVITES ENZYMATIQUES DU PSORIASIS EN nM/mg/h
DE SUBSTRAT LIBERE (N = 15).

tivité que nous avons observé est très inférieure à celle constatée par MIER et VAN DEN HURK, 170 nmol/mn/mg (212). Ces auteurs concluent que cette enzyme est la plus active parmi les glycosidases dans le psoriasis, ce qui ne correspond pas à nos résultats.

d) Les protéases

Un certain nombre d'amino-peptidases voit leur activité s'accroître de manière importante dans le psoriasis, pour arriver au triple de la valeur normale.

La L-arginine-2-naphtylamidase (C.39) dont l'activité est identique dans la peau témoin et apparemment saine de psoriasis, 5 nM/mg/L, passe à 18,7 nM/mg/h.

Il en est de même de la S-benzoyl-L-cystéine-2-naphtylamidase (C.43), de la glycyl-glycine-2-naphtylamidase (C.46), de la L-glutamine-2-naphtylamidase (C.52), de la L-leucyl-glycine-2-naphtylamidase (C.49).

Il s'agit là des réactions enzymatiques dont le taux d'augmentation est le plus marqué.

Les autres amino-peptidases doublent en moyenne leur activité par rapport à l'échantillon témoin.

- La L-leucine-2-naphtylamidase (C.6) révèle une activité assez importante, 17,3 nM/mg/h. Plusieurs de nos prélèvements atteignent la saturation visuelle. MIER et VAN DEN HURK ont dosé la leucine amino-peptidase dans le psoriasis en utilisant le même substrat que nous. Ils constataient que l'activité de la lésion triplait par rapport au témoin, 910 pour 300 nmol/min/g de poids frais ce qui correspond à des taux de très loin supérieurs aux nôtres (212).

D'autres substrats ont la capacité de révéler une activité leucine amino-peptidasique comme le L-leucyl-glycyl. Cette réaction 49, que nous avons déjà évoquée, triple dans le psoriasis mais reste faible, 5,8 nM/mg/h, vraisemblablement liée à une moindre affinité de l'enzyme pour ce substrat.

- L'activité amidasique de la chymotrypsine (C.44), révélée par le glutaryl-L-phénylalanine-2-naphtylamide, est modérément augmentée, 16 pour 9 nM/mg/h au témoin. La fonction estérasique de cette enzyme n'est toujours pas mise en évidence.

- Les caractères 33 et 34, L-phénylalanine-2-naphtylamidase et L-lysine-2-naphtylamidase, s'accroissent de façon analogue dans la lésion psoriasique pour atteindre des activités élevées et comparables, respectivement 21 et 20 nM/mg/h.

- L'activité amino-peptidase de type ocytocinase, mise en évidence avec le L-cystyl-di-2-naphtylamide (substrat 43), augmente d'une manière importante par rapport au témoin, bien que l'activité dans le psoriasis soit modérée, 10,5 nM/mg/h. Il ne semble pas que cette activité ait été étudiée dans cette affection.

- Les réactions 57,58 et 59 correspondant aux L-sérine, L-thréonine et L-tryptophane naphtylamidases, présentent des activités identiques de l'ordre de 6,5 nM/mg/h. Devant cette analogie de réponse, on peut se demander s'il ne s'agissait pas d'une même activité, révélée par trois substrats différents. Il faut admettre en ce cas qu'elle a autant d'affinité pour l'un ou l'autre de ces substrats ce qui paraît peu probable.

- MIER et VAN DEN HURK ont dosé dans l'épiderme sain et psoriasique la cathepsine C, en utilisant comme substrat le glycyl-L-phénylalanine-2-naphtylamide (209-213) qui est présent dans la galerie API (C.47). Il n'est pas impossible que ce soit cette activité qui ait été révélée avec un taux de 13,6 nM/mg/h à la lésion, pour 7,2 nM/mg/h dans la peau saine. On ne peut affirmer qu'il s'agit de la

cathepsine C, mais vu l'affinité de cette enzyme pour ce substrat, cela n'est pas improbable. MIER et Coll. ont relevé dans le psoriasis une activité à 120 nmol/min/g de poids sec et à 51 nmol/g/min dans la peau saine. Le rapport d'augmentation est le même que celui que nous observons.

e) Les déshydrogénases

Nous n'observons pas dans l'échantillon de psoriasis l'apparition de nouvelles réactions déshydrogénases par rapport à l'échantillon témoin ou peaux apparemment saines de psoriasis.

Par contre, l'accroissement d'activité est très important pour trois d'entre elles, de très loin supérieur à ce que nous avons remarqué jusqu'à maintenant. Il s'agit de :

- La glucose-6-phosphate déshydrogénase (C.63)
- La lactate déshydrogénase (C.66)
- La 6-phosphogluconate déshydrogénase (C.68).

Cette dernière en particulier, voit son activité multiplier par 6.

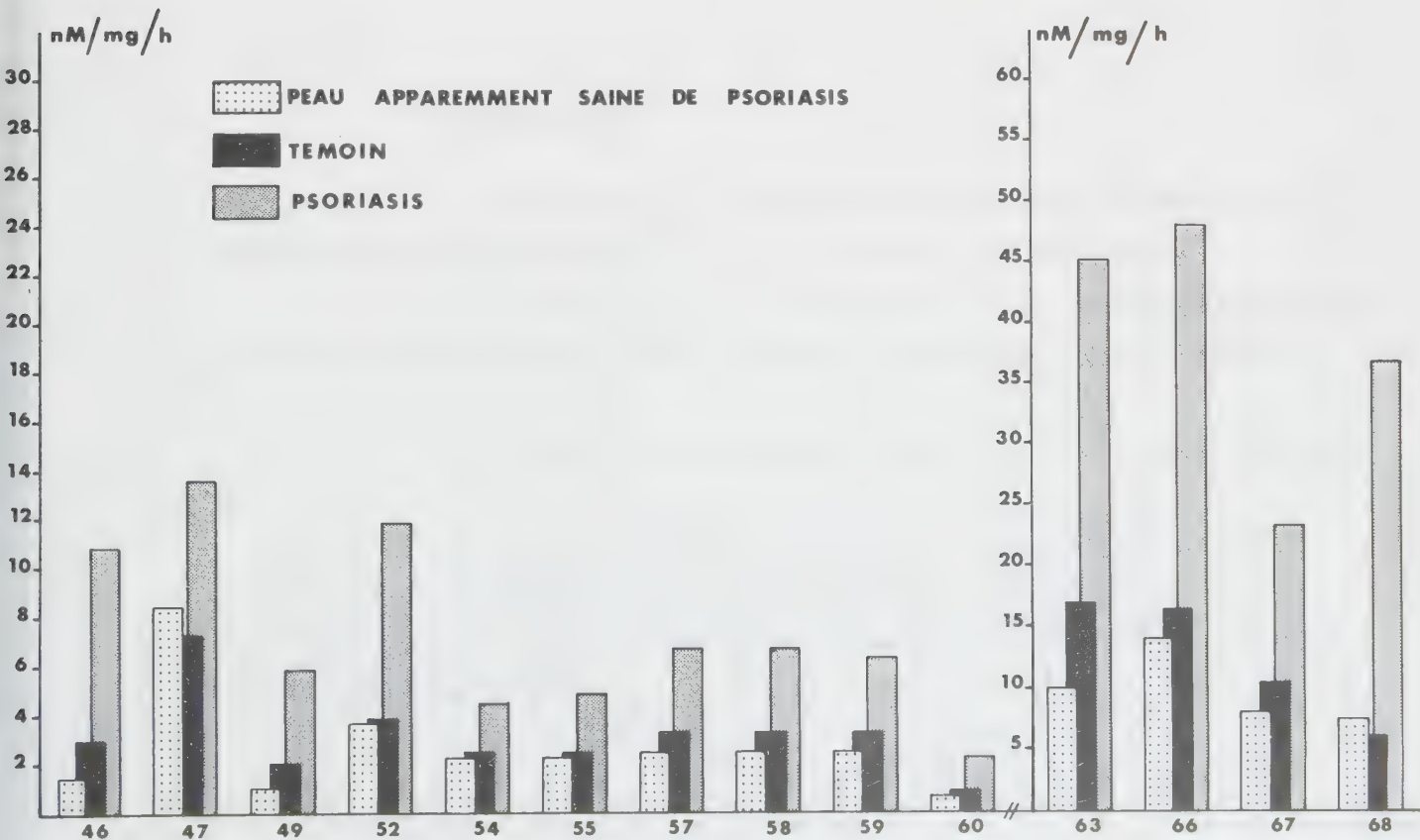
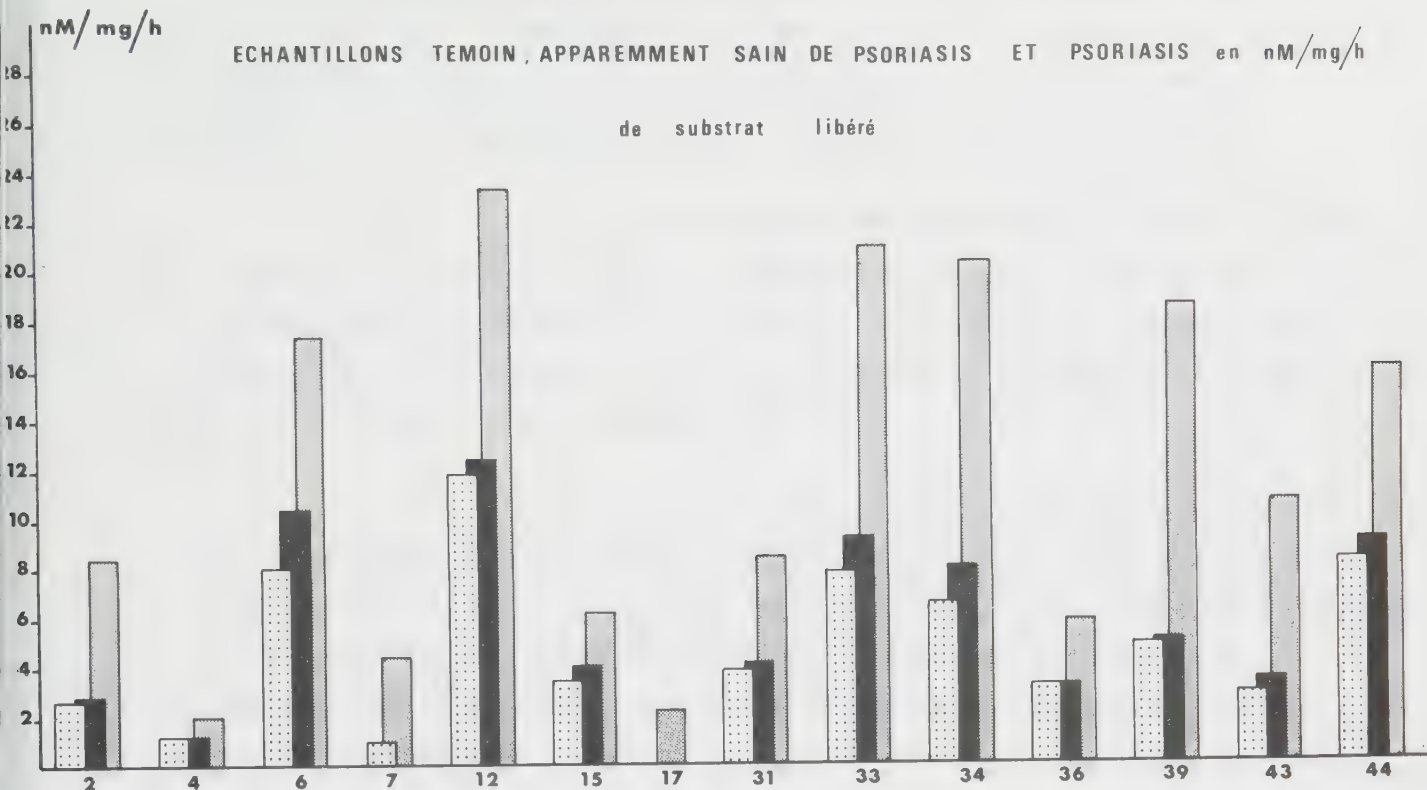
Quant à la malate déshydrogénase (C.67), elle augmente dans des proportions plus modérées puisqu'elle double par rapport au témoin.

- La glucose-6-phosphate déshydrogénase et la 6-phosphogluconate déshydrogénase révèlent des activités respectives de 45,5 et 36,8 nM/mg/h dans la lésion psoriasique. Ces résultats sont en rapport avec ceux de la littérature où l'on retrouve une très forte augmentation de ces deux activités (35-119-168), secondaire à une déviation du métabolisme du glucose vers le shunt des hexoses-monophosphate qui avait été constatée par HALPRIN et OHKAWARA (119).

Fig. 5 : VALEURS MOYENNES DES DIFFERENTES ACTIVITES ENZYMATIQUES DES

ECHANTILLONS TEMOIN, APPAREMMENT SAIN DE PSORIASIS ET PSORIASIS en nM/mg/h

de substrat libéré



Cependant ces mêmes auteurs concluaient que l'accroissement d'activité était encore plus marqué pour la G-6-PDH que la 6-PGDH. Or nos constatations aboutissent à la conclusion inverse.

- La lactate déshydrogénase montre une activité très importante, la plus forte de ce groupe d'enzymes, 48,2 nM/mg/h dans la lésion pour 16,6 nM/mg/h dans l'échantillon témoin. L'activité déshydrogénase la plus importante relevée par HALPRIN et OHKAWARA dans le psoriasis était la lactate déshydrogénase (119).

- L'activité malate déshydrogénase, seule enzyme du cycle de KREBS mise en évidence, s'accroît plus modérément que les précédentes puisqu'elle double par rapport au témoin, 23,3 pour 10,6 nM/mg/h de substrat libéré. Cette observation confirme celle d'HALPRIN et OHKAWARA qui constataient dans cette affection une augmentation d'activité de 100% (119).

C - CONCLUSIONS

Au terme de cette étude enzymatique du psoriasis, les résultats observés nous amènent à tirer plusieurs conclusions.

En premier lieu, la confirmation de la reproductibilité de la méthode, déjà constatée dans l'échantillon de peaux saines témoins.

Mise à part cette donnée d'ordre technique, nous observons :

- La confirmation d'une donnée connue, l'hyperactivité enzymatique de la plaque psoriasique liée à un "turn over" accéléré, d'ailleurs non spécifique de cette affection, mais retrouvée dans toute hyperplasie épidermique.

- Le taux des réactions double en moyenne par rapport à celui de la peau saine témoin. Si les valeurs chiffrées des activités mises en évidence restent très inférieures à celles relevées par des méthodes histochimiques ou biochimiques, les proportions n'en sont pas moins respectées.

Ainsi pour ce citer que les déshydrogénases, nous confirmons que la lactate déshydrogénase est, parmi ce groupe d'enzymes, celle dont l'activité est la plus élevée. De même, la malate déshydrogénase double par rapport à la peau saine témoin, ce qui est en accord avec les données de la littérature.

Ces exemples, pour ne citer que ceux-là, ne sont pas les seuls.

- Cette hyperactivité enzymatique, également très marquée pour la G-6-PDH et la 6-PGDH, confirme dans le psoriasis la déviation du métabolisme du glucose vers le shunt des hexoses monophosphates.

En plus de la confirmation des données bibliographiques, nous constatons :

- l'analogie d'activité entre la peau saine témoin et la peau apparemment saine de psoriasis. Cette donnée est actuellement très controversée et notre étude peut y apporter un élément supplémentaire.

- cependant, si les activités de ces deux échantillons sont sensiblement identiques nous avons noté une tendance : l'apparition plus fréquente, dans la peau apparemment saine de psoriasis, d'activités rarement révélées dans les prélèvements de peaux saines témoins. Ne s'agissant que d'une tendance et non d'un fait certain, il est difficile d'en tirer des conclusions plus approfondies.

Néanmoins, à partir de cette première étude, il serait intéressant d'approfondir cette donnée, à partir d'un plus grand nombre de prélèvements.

III - ACTIVITES ENZYMATIQUES DU VITILIGO

Notre étude en ce domaine porte sur 5 malades et il semble difficile de tirer des conclusions à partir de ce faible échantillon. Nous pouvons cependant, si elle existe, constater telle ou telle tendance dans le vitiligo par rapport à la peau témoin ou à la peau saine de vitiligo.

Au regard des résultats, nous n'observons pas de différences majeures entre les deux échantillons de vitiligo (peau saine, peau lésée) d'une part, et entre le vitiligo et la peau normale témoin d'autre part.

A - REACTIONS NON REVELEES

Nous retrouvons l'absence des mêmes caractères que ceux constatés dans les prélèvements témoins.

Il s'agit des activités suivantes :

- Lipase (C.5)
- Trypsine (C.9)
- Chymotrypsine (C.10)
- α D-galactosidase (C.13)
- β D-galactosidase (C.14)
- α D-glucosidase (C.16)
- β D-glucosidase (C.17)
- α D-mannosidase (C.19)
- α L-fucosidase (C.20)
- L-pyrrolidonyl peptidase (C.32)
- L-hydroxyproline-2-naphtylamidase (C.35)
- α L-acide aspartique-2-naphtylamidase (C.38)
- γ L-acide glutamique transpeptidase (C.41)
- N-benzoyl-L-leucine-2-naphtylamidase (C.42)

- L-méthionine-2-naphtylamidase (C.45)
- glycyl-L-proline-2-naphtylamidase (C.48)
- L-séryl-L-tyrosine-2-naphtylamidase (C.50)
- N-CBZ-L-arginyl-4-méthoxy-2-naphtylamidase (C.51).

Il est à noter la présence de deux caractères dans deux des cinq prélèvements de vitiligo, avec des activités faibles de l'ordre de 2 nmol/mg/h :

- La L-leucyl-glycine-2-naphtylamidase (C.49)
- La L-proline-2-naphtylamidase (C.56)

Ces deux réactions avaient été révélées dans la peau saine témoin, avec une même activité, mais dans la presque totalité des prélèvements.

Il est donc intéressant de constater cette similitude des résultats, ne serait-ce qu'entre la peau saine de vitiligo et la peau saine témoin. Ceci est un élément en faveur de la reproductibilité de la méthode.

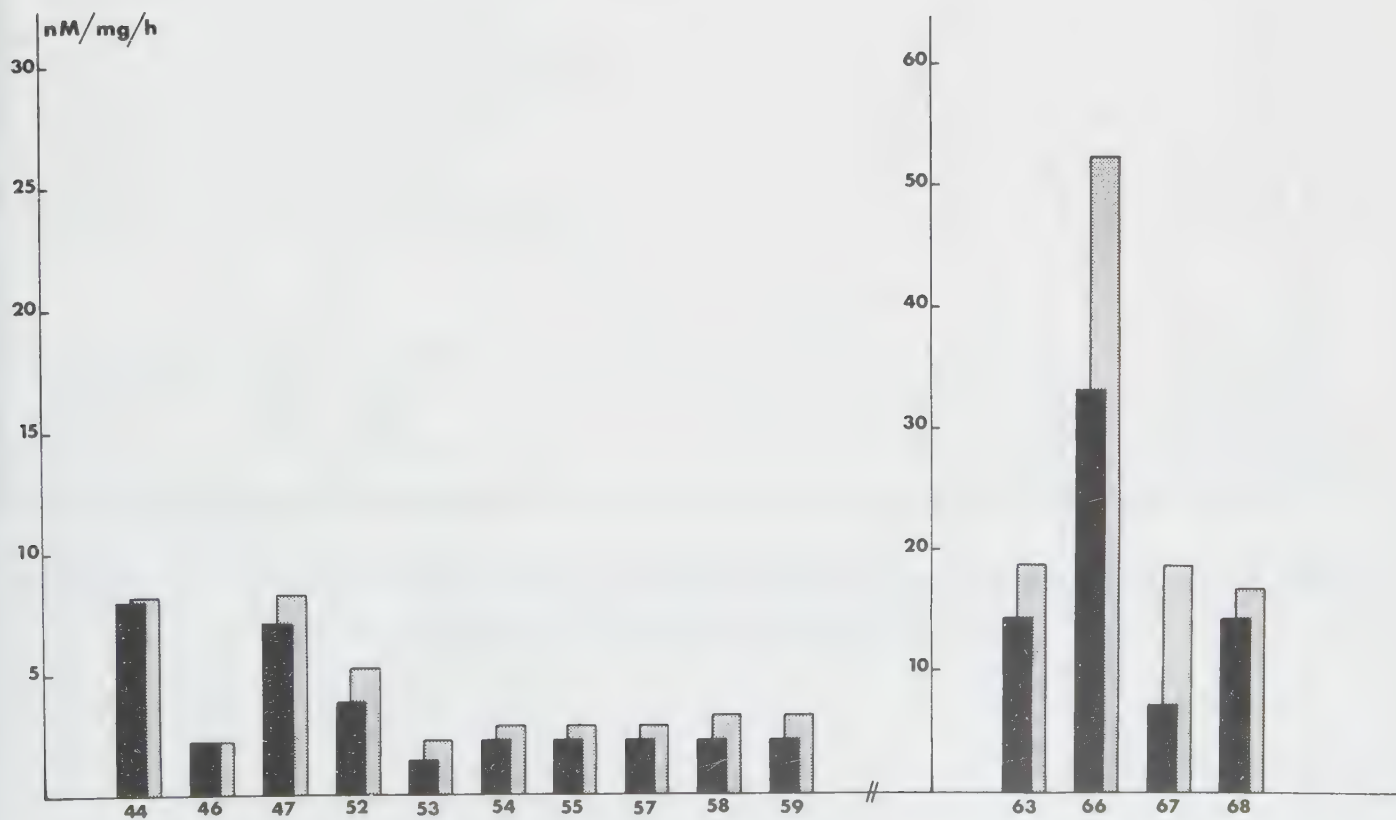
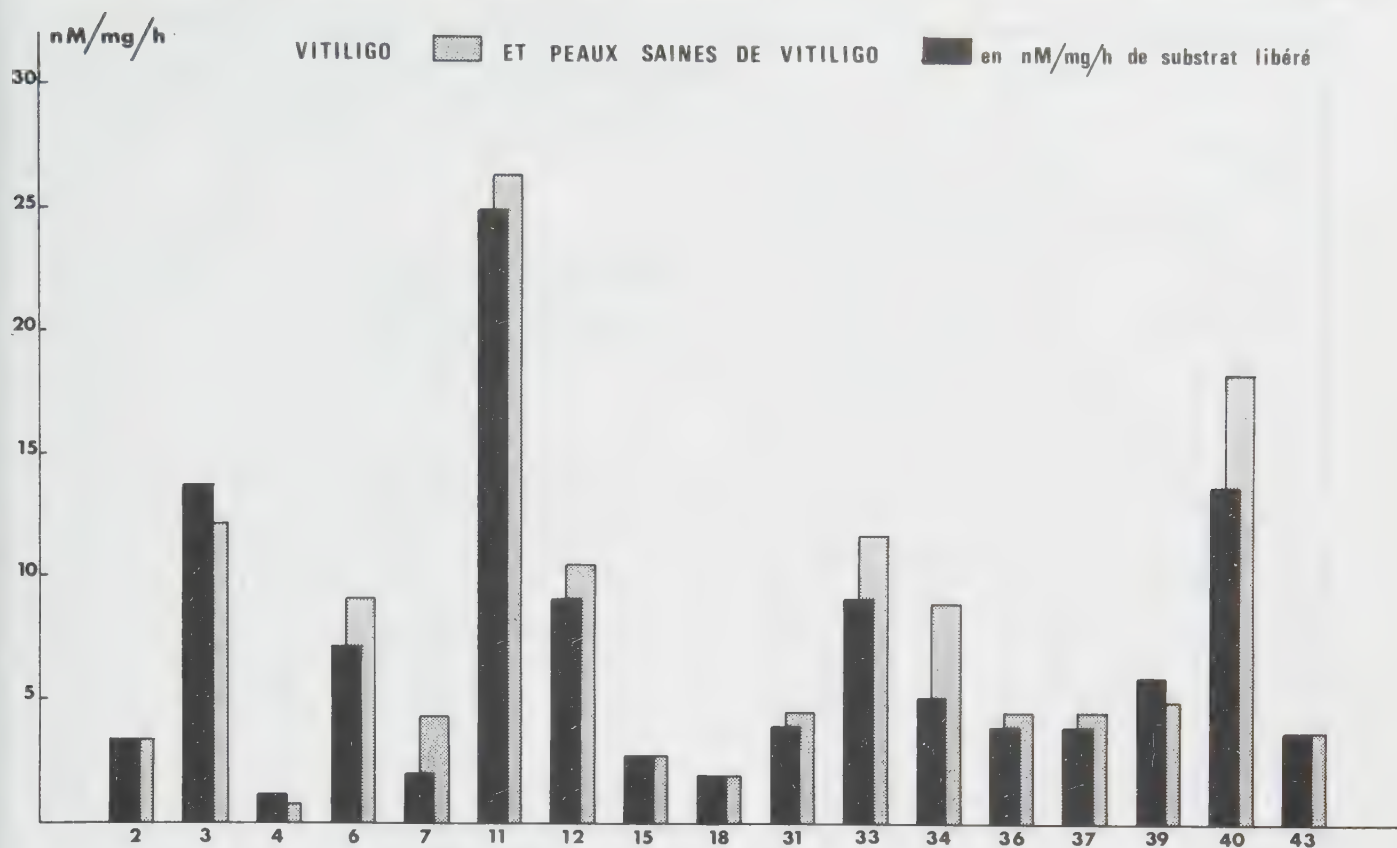
B - REACTIONS REVELEES

Nous rapportons dans le tableau 19 la valeur moyenne des activités qui ont été mises en évidence.

En dehors de quelques différences, les activités enzymatiques des trois échantillons comparés, peaux saines et lésées de vitiligo et peaux témoins sont sensiblement analogues.

Une réaction cependant révèle une différence d'activité importante, la glucose-6-phosphate deshydrogénase (C.63). Celle-ci indique dans la peau saine et lésée de vitiligo une activité de l'ordre de 8 nM/mg/h, alors qu'elle est de 17 nM/mg/h dans l'échantillon témoin.

Fig. 6: VALEURS MOYENNES DES DIFFERENTES ACTIVITES ENZYMATIQUES DES ECHANTILLONS



PEAUX SAINES VITILIGO	N°	ACTIVITES ENZYMATIQUES	VITILIGO		
M $\pm$ σ_m $\alpha = 0,05$			M $\pm$ σ_m $\alpha = 0,05$	Min.	Max.
3,3 $\pm$ 0,0	2	Phosphatase alcaline	3,3 $\pm$ 1,2	2,0	5,0
13,8 $\pm$ 5,9	3	Estérase (C4)	12,2 $\pm$ 6,5	5,0	19,8
1,2	4	Estérase-lipase (C8)	0,8	0,0	2,0
7,2 $\pm$ 6,4	6	L-leucine	9,2 $\pm$ 4,4	6,6	13,2
2,0	7	L-valine	4,4 $\pm$ 5,9	2,0	13,2
0,8	8	L-cystine	1,2	0,0	2,0
25,0 $\pm$ 3,6	11	Phosphatase acide	26,4 $\pm$ 0,0	26,40 et +	
9,2 $\pm$ 5,9	12	Phosphoamidase	10,5 $\pm$ 4,4	6,6	13,2
2,8 $\pm$ 1,6	15	β D-glucuronidase	2,8 $\pm$ 1,6	2,0	5,0
1,9	18	β D-glucosaminidase	2,0 $\pm$ 2,6	0,0	5,0
3,9 $\pm$ 1,1	31	L-tyrosine	4,6 $\pm$ 1,6	3,3	6,6
9,2 $\pm$ 4,4	33	L-phénylalanine	11,8 $\pm$ 2,1	9,9	13,2
5,2 $\pm$ 3,6	34	L-lysine	8,9 $\pm$ 5,6	3,3	13,2
3,9 $\pm$ 1,7	36	L-histidine	4,6 $\pm$ 2,1	3,3	6,6
3,9 $\pm$ 1,7	37	L-glycine	4,6 $\pm$ 2,1	3,3	6,6
5,9 $\pm$ 5,2	39	L-arginyl	4,9 $\pm$ 2	3,3	6,6
13,8 $\pm$ 5,9	40	L-alanine	18,4 $\pm$ 2,1	16,5	19,8
3,7 $\pm$ 2,4	43	S-benzoyl-L-cystéine	3,7 $\pm$ 2	2,0	6,6
7,9 $\pm$ 5,3	44	Chymotrypsine	8,2 $\pm$ 6,3	3,3	16,5
2,1 $\pm$ 1,6	46	Glycyl-glycine	2,1 $\pm$ 1,6	0,0	3,3
6,9 $\pm$ 4,5	47	Glycyl-L-phénylalanine	8,2 $\pm$ 3,5	3,3	16,5
3,8 $\pm$ 4,1	52	L-glutamine	5,2 $\pm$ 3,6	3,3	9,9
1,4	53	α -acide glutamique	2,1 $\pm$ 1,6	0,0	3,3
2,2 $\pm$ 2,1	54	L-isoleucine	2,7 $\pm$ 0,8	2,0	3,3
2,2 $\pm$ 2,1	55	L-ornithine	2,7 $\pm$ 0,8	2,0	3,3
2,2 $\pm$ 2,1	57	L-sérine	2,7 $\pm$ 0,8	2,0	3,3
2,2 $\pm$ 2,1	58	L-thréonine	3,1 $\pm$ 1,5	2,0	5,0
2,2 $\pm$ 2,1	59	L-tryptophane	3,1 $\pm$ 1,5	2,0	5,0
7,1 $\pm$ 6	63	G-6-PDH	9,5 $\pm$ 11	0,0	23,8
16,6 $\pm$ 17,9	66	LDH	26,1 $\pm$ 16,6	5,9	35,6
3,5	67	MDH	9,5 $\pm$ 11	0,0	23,8
7,1 $\pm$ 6	68	6-PGDH	8,3 $\pm$ 6,4	0,0	11,9

TABEAU 19 : VALEURS MOYENNES DES ACTIVITES ENZYMATIQUES DES ECHANTILLONS DE PEAUX SAINES ET LESEES DE VITILIGO en nM/mg/h (N = 5).

Nous n'avons pas retrouvé dans la littérature d'éléments pouvant expliquer cette constatation. Le petit nombre de prélèvements que comporte cet échantillon pourrait peut-être en être la raison.

Nous pouvons donc estimer aux vues des résultats qu'il n'y a pas dans cette dyschromie acquise,enzymologiquement peu étudiée, de modifications majeures. Dans une étude sur la distribution et l'activité de la phosphatase alcaline dans différentes affections dermatologiques, KOPF n'avait pas relevé de différences entre la peau saine et le vitiligo (175).

IV - ACTIVITES ENZYMATIQUES DES NAEVI NAEVO-CELLULAIRES

Nous avons analysé pour ce travail 21 naevi naevo-cellulaires dont 9 avaient une activité jonctionnelle. Aucune de ces pièces ne présentait de signes anatomo-pathologiques susceptibles d'évoquer une transformation maligne éventuelle ou patente.

Nous étudierons dans un premier temps les résultats obtenus pour l'ensemble de l'échantillon des naevi naevo-cellulaires. En l'absence de tout critère potentiel de malignité (réaction lymphocytaire précoce, ulcération, ébranlement tissulaire avec ségrégation cellulaire, hypervascularisation avec néoangiogénèse) nous avons séparé cet échantillon en deux parties : les naevi naevo-cellulaires avec ou sans activité jonctionnelle. Nous analyserons dans un second temps les différences d'activités enzymatiques observées entre ces deux groupes.

A - ACTIVITES ENZYMATIQUES DE L'ENSEMBLE DE L'ECHANTILLON

Nous pouvons établir au premier abord deux constatations :

- d'une part, la mise en évidence d'un plus grand nombre d'activités enzymatiques par rapport à la peau saine témoin
- d'autre part, que les réactions révélées présentent une plus grande activité que ce que nous avons déjà observé dans les échantillons précédents.

Ces constatations sont en rapport avec celles de la littérature qui met en évidence un métabolisme énergétique élevé de la cellule naevique (74,249).

11 - Réactions non révélées

Si 21 réactions ont toujours été négatives dans les prélèvements de peaux saines normales, nous n'en retrouvons que 8 dans les naevi naevo-cellulaires qui sont les suivantes :

- Trypsine (C.9)
- Chymotrypsine (C.10)
- α D-galactosidase (C.13)
- α D-glucosidase (C.16)
- α D-mannosidase (C.19)
- α L-fucosidase (C.20)
- L-séryl-L-tyrosine-2-naphtylamidase (C.50)
- N-CBZ-L-arginyl-4-méthoxy-2-naphtylamidase (C.51)

Nous plaçons dans ce paragraphe plusieurs réactions qui ont été mises en évidence à des taux faibles, dans jamais plus de la moitié des prélèvements analysés. Il s'agit des activités qui suivent :

- Lipase (C.5)
- β D-glucosidase (C.17)
- L-pyrrolidonyl peptidase (C.32)
- γ L-acide glutamique transpeptidase (C.41)
- N-benzoyl-L-leucine-2-naphtylamidase (C.42)
- L-méthionine-2-naphtylamidase (C.45)
- α -glycérophosphate déshydrogénase (C.64)
- Isocitrate déshydrogénase (C.65)
- Succino déshydrogénase (C.69).

Mise à part la réaction 41, aucune de celles que nous venons de citer n'était présente dans la peau saine témoin. Ces faits confirment les constatations établies au début de ce chapitre.

Il est à noter l'apparition de trois nouvelles activités déshydrogénases. Ces trois réactions ont été observées dans un naevi naevo-cellulaire (cas n°17) sans activité jonctionnelle. Nous aurions pu penser que cette dernière serait présente, comme nous le verrons ultérieurement. Leurs activités étaient faibles, de l'ordre de 6 nM/mg/h. L'isocitrate déshydrogénase a été mise en évidence dans un autre prélèvement (cas n°16), également sans activité jonctionnelle.

EADY et Coll. ont montré que l'activité succino déshydrogénase était importante dans les cellules naeviques, en particulier dans les cellules jonctionnelles (74).

2 - Réactions révélées

Le nombre des réactions mises en évidence dans les naevi naevo-cellulaires est plus important que dans la peau saine témoin ; leur activité est d'autre part très nettement augmentée.

Nous rapportons dans le tableau 20 la valeur moyenne des activités révélées. Elle correspond à ce que nous avons observé pour l'ensemble des prélèvements avec ou sans activité jonctionnelle. Ces activités sont rapportées sous la forme d'un histogramme dans la Figure 7.

La première constatation que nous pouvons établir est la plus grande disparité des résultats. En effet, une même réaction enzymatique, en fonction des prélèvements, peut voir son intensité varier de 1 à 3. Ceci peut s'expliquer en se rapportant aux données anatomo-pathologiques. Les prélèvements d'activités élevées sont ceux dont la densité en cellules naeviques est la plus forte ou ceux dont les cellules de UNNA sont les plus volumineuses. Cette constatation peut paraître à posteriori évidente.

Nous allons maintenant étudier plus en détail les résultats obtenus dans cet échantillon de 21 naevi naevo-cellulaires.

a) Les phosphatases

L'activité phosphatase alcaline augmente de manière importante et triple par rapport à la peau saine témoin pour atteindre 8 nM/mg/h de substrat libéré. Il est à noter que EADY et Coll. obtenaient une réaction phosphatase alcaline négative dans les cellules naeviques épithélioïdes (74). Elle était par contre modérément positive dans les anses capillaires.

Ceci n'est pas étonnant, l'activité phosphatase alcaline étant essentiellement localisée, dans la peau, au niveau des parois vasculaires.

L'activité phosphatase acide (C.11) atteint pour 20 des 21 prélèvements analysés la saturation visuelle, mais celle-ci est vraisemblablement beaucoup plus élevée. Il est difficile de mesurer ce surplus d'activité, ce qui explique la faible différence qui existe avec les prélèvements de peaux saines témoins. EADY et Coll. notaient une réaction modérée de cette enzyme dans les cellules naeviques.

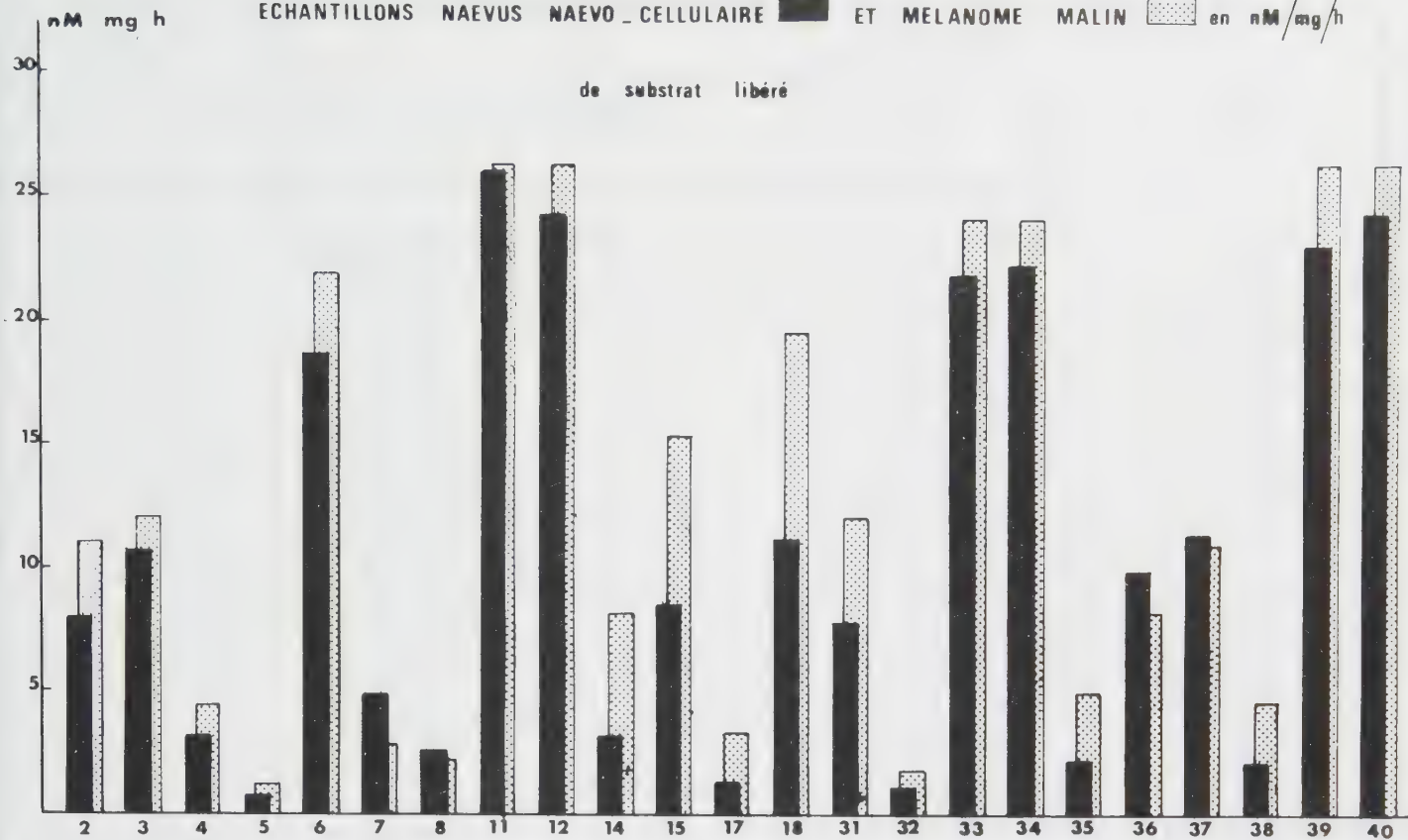
La phosphoamidase (C.12) voit, avec 24,3 nM/mg/h, son activité doubler par rapport au témoin. Nous n'avons pas retrouvé dans la littérature de données se rapportant à cette enzyme dans les naevi naevo-cellulaires. Nous constatons qu'elle est sensiblement identique à l'activité observée dans la plaque psoriasique.

b) Les estérases, lipases

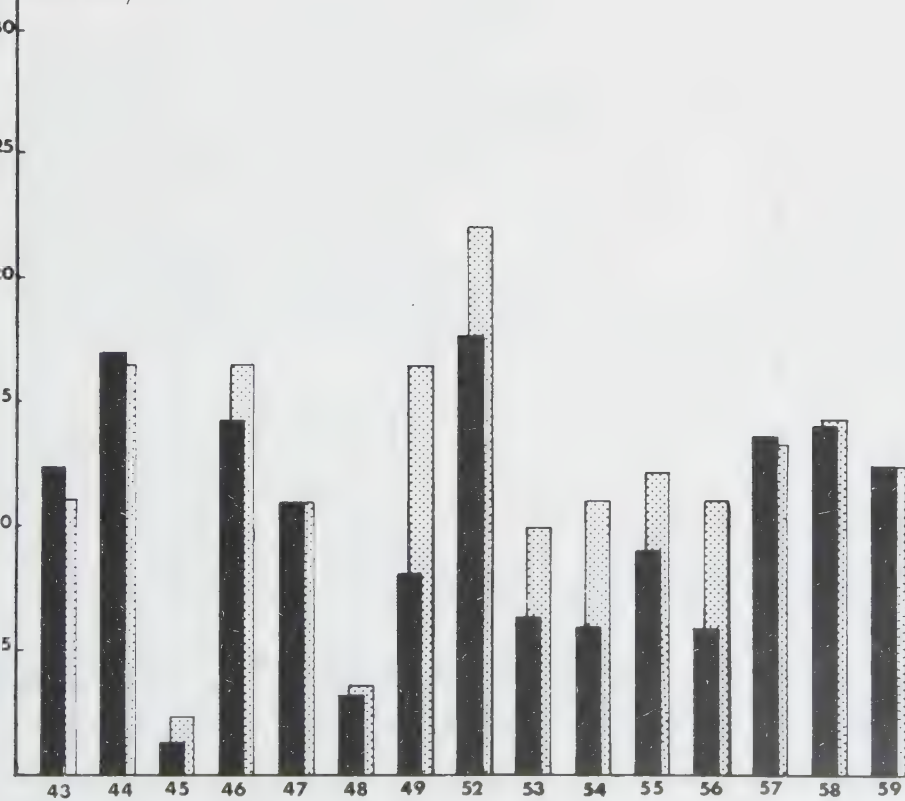
Les réactions estérases-lipases sont peu modifiées par rapport au témoin. Si l'activité estérase (C.3) est sensiblement identique entre les deux types d'échantillons, il nous semble que la différence est d'autant plus marquée que la chaîne carbonée augmente. Ainsi, l'accroissement d'activité est plus net dans les estérases-lipases (C.4) et lipases (C.5) dont les chaînes aliphatiques de l'ester comportent respectivement 8 et 14 carbones.

Fig. 7. VALEURS MOYENNES DES DIFFERENTES ACTIVITES ENZYMATIQUES DES

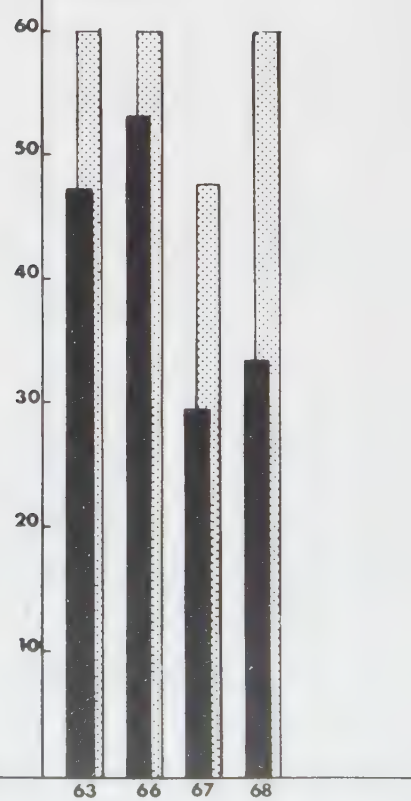
ECHANTILLONS NAEVUS NAEVO_CELLULAIRE ET MELANOME MALIN en nM/mg/h



nM/mg/h



nM/mg/h



TEMOINS		N°	ACTIVITES ENZYMATIQUES	NAEVI NAEVO-CELLULAIRES		
M $\pm$ σ $\alpha = 0,05$				M $\pm$ σ $\alpha = 0,05$	Min.	Max.
2,8 $\pm$ 0,3	2		Phosphatase alcaline	8,0 $\pm$ 2,4	3,3	19,8
8,5 $\pm$ 1,9	3		Estérase (C4)	10,6 $\pm$ 1,8	3,3	19,8
1,2 $\pm$ 0,5	4		Estérase-lipase (C8)	3,1 $\pm$ 0,6	2,0	6,6
10,3 $\pm$ 2,2	6		L-leucine	18,7 $\pm$ 2,7	6,6	26,4 et +
0,2 $\pm$ 0,3	7		L-valine	4,9 $\pm$ 1,8	0	13,2
-	8		L-cystine	2,6 $\pm$ 0,3	0	3,3
24,5 $\pm$ 1,7	111		Phosphatase acide	26,1 $\pm$ 0,6	19,8	26,4 et +
12,3 $\pm$ 1,8	12		Phosphoamidase	24,3 $\pm$ 1,3	19,8	26,4 et +
-	14		β D-galactosidase	3,1 $\pm$ 0,7	0	6,6
3,9 $\pm$ 0,8	15		β D-glucuronidase	8,5 $\pm$ 2,3	3,3	19,8
-	17		β D-glucosidase	1,3	0	6,6
3,1 $\pm$ 0,2	18		β D-glucosaminidase	11,2 $\pm$ 2,2	3,3	19,8
4,1 $\pm$ 0,8	31		L-tyrosine	7,8 $\pm$ 1,9	3,3	19,8
9,2 $\pm$ 1,5	33		L-phénylalanine	21,9 $\pm$ 2,7	13,2	26,4 et +
8,0 $\pm$ 1,5	34		L-lysine	22,2 $\pm$ 2,1	13,2	26,4 et +
-	35		L-hydroxyproline	2,1 $\pm$ 0,6	0	5,0
3,1 $\pm$ 0,5	36		L-histidine	9,9 $\pm$ 2,2	3,3	19,8
4,5 $\pm$ 0,5	37		L-glycine	11,4 $\pm$ 2,1	5,0	19,8
-	38		α L-acide aspartique	2,1 $\pm$ 0,6	0	3,3
5,0 $\pm$ 0,8	39		L-arginine	23,1 $\pm$ 2,1	13,2	26,4 et +
17,1 $\pm$ 1,7	40		DL-alanine	24,3 $\pm$ 1,7	13,2	26,4 et +
3,3 $\pm$ 0,3	43		S-benzoyl-L-cystéine	12,3 $\pm$ 2,1	5,0	19,8
9,0 $\pm$ 1,6	44		Chymotrypsine	17,0 $\pm$ 1,3	13,2	19,8
3,0 $\pm$ 0,3	46		Glycyl-glycine	14,2 $\pm$ 2,4	3,3	19,8
7,2 $\pm$ 1,0	47		Glycyl-L-phénylalanine	11,0 $\pm$ 0,9	3,3	19,8
-	48		Glycyl-L-proline	3,2 $\pm$ 1,5	0	13,2
1,9 $\pm$ 0,9	49		L-leucyl glycine	8,0 $\pm$ 2,2	3,3	19,8
3,9 $\pm$ 0,6	52		L-glutamine	17,6 $\pm$ 2,8	5,0	26,4 et +
2,5 $\pm$ 0,3	53		α L-acide glutamique	6,2 $\pm$ 1,5	3,3	13,2
2,3 $\pm$ 0,5	54		L-isoleucine	5,8 $\pm$ 1,5	2,0	13,2
2,3 $\pm$ 0,5	55		L-ornithine	8,8 $\pm$ 2,1	3,3	16,5
2,2 $\pm$ 0,6	56		L-proline	5,7 $\pm$ 1,3	3,3	13,2
3,1 $\pm$ 0,6	57		L-sérine	13,6 $\pm$ 2,7	3,3	26,4 et +
3,1 $\pm$ 0,6	58		L-thréonine	13,9 $\pm$ 2,8	3,3	26,4 et +
3,1 $\pm$ 0,6	59		L-tryptophane	12,4 $\pm$ 2,3	3,3	19,8
0,8 $\pm$ 0,9	60		NCBZ-glycyl-glycyl-L-arginine	2,6 $\pm$ 1,3		
17,0 $\pm$ 4,9	63		G-6-PDH	47,3 $\pm$ 5,4	23,8	59,4 et +
16,6 $\pm$ 4,3	66		LDH	52,5 $\pm$ 3,7	35,6	59,4 et +
10,6 $\pm$ 1,8	67		MDH	29,3 $\pm$ 5,6	11,9	53,4
6,3 $\pm$ 2,3	68		6-PGDH	33,4 $\pm$ 6,5	5,0	59,4 et +

TABLEAU 20 : VALEURS MOYENNES DES ACTIVITES ENZYMATIQUES DE L'ECHANTILLON DE NAEVI NAEVO-CELLULAIRES, EN nM/mg/h (N = 21).

c) Le glycosidases

Apparaissent par rapport à la peau saine témoin deux caractères glycosidasiques supplémentaires. Leur activité est cependant faible. Il s'agit de la β D-galactosidase (C.14) et de la β D-glucosidase (C.17). Ces deux réactions avaient déjà été mises en évidence dans la plaque psoriasique à des taux sensiblement analogues.

Le fait le plus important est la très forte augmentation de l'activité 18, N-acétyl- β D-glucosaminidase, qui est multipliée par quatre par rapport à la peau saine pour arriver à 11,2 nM/mg/h. Sa valeur n'était que de 4,4 dans la lésion psoriasique. Le fait avait déjà été noté par THIVOLET et Coll. (303). Il semble donc que la β D-glucosaminidase, de par son augmentation très marquée, soit un caractère discriminatif des proliférations tumorales bénignes, en particulier à cellules naeviques. Il aurait été intéressant de comparer cette donnée à celles de la littérature, mais cette enzyme n'a pas été étudiée par EADY et Coll. (74), BRAUN-FALCO et PETZOLDT (37).

d) Les protéases

Toutes les protéases indiquent une réaction grandement accrue par rapport à la peau saine témoin, mais la plupart d'entre elles ont des activités, bien que légèrement supérieures, analogues à la plaque psoriasique.

Cependant, l'activité de 9 de ces protéases diffère de celle du psoriasis et nous allons les étudier plus en détail :

- La L-histidine-2-naphtylamidase (C.36), avec une activité à 9,9 nM/mg/h dans le psoriasis, révèle 11,4 nM/mg/h dans les cellules naeviques.

- La L-glycine-L-proline-2-naphtylamidase (C.48) dont l'activité est très modérée dans notre échantillon de naevi naevo-cellulaires, 3,2 nM/mg/h, mais nulle dans celui du psoriasis.

- La L-glutamine-2-naphtylamidase (C.52) présente une différence moins marquée que les autres protéases de ce groupe, tout en étant cependant significative, avec une activité à 17,6 nM/mg/h. alors qu'elle n'est que de 11,8 nM/ng/h dans le psoriasis.

- L' α L-acide glutamique-2-naphtylamidase (C.53) voit son intensité doubler par rapport à la plaque psoriasique avec 6,2 nM/mg/h. Il en est de même de la L-ornithine-2-naphtylamidase (C.55) avec 8,8 nM/mg/h.

- Les L-sérine et L-thréonine naphtylamidases (Caractères 57 et 58) présentent des activités analogues, 14 nM/mg/h, supérieures au double de ce qui est observé dans la plaque psoriasique. C'est également le cas de la L-tryptophane-2-naphtylamidase avec 12,4 nM/mg/h.

Ces activités discriminatives ne sont pas retrouvées dans la littérature où seule est étudiée la leucine amino-peptidase (249).

e) Les déshydrogénases

Nous constatons de fortes réactions déshydrogénases, supérieures à celles observées dans le psoriasis, sauf en ce qui concerne la 6-phosphogluconate déshydrogénase.

- La glucose-6-phosphate déshydrogénase présente une activité à 47,3 nM/mg/h. EADY et Coll. avaient noté une forte activité dans les cellules naeviques (74), moyenne pour BRAUN-FALCO et PETZOLDT (37).

- La lactate déshydrogénase présente avec 52,5 nM/mg/h l'activité la plus élevée. Cette constatation est en accord avec les résultats obtenus par BRAUN-FALCO et PETZOLDT, qui trouvaient la réaction lactate déshydrogénase plus intense que les autres déshydrogénases.

- Avec une activité à 29,3 nM/mg/h, la réaction malate déshydrogénase est moins importante que les deux précédentes. Là encore, ce résultat est analogue à celui relevé par PETZOLDT (249).

- Quant à la 6-phosphogluconate déshydrogénase, elle aurait, d'après BRAUN-FALCO et PETZOLD (37), une activité supérieure à la glucose-6-phosphate déshydrogénase, ce que nous ne confirmons pas. Nous lui trouvons en effet une activité à 33,4 nM/mg/h.

En dehors de toute valeur quantitative, il est important de noter que nos résultats, mis à part celui de la 6-phosphogluconate déshydrogénase, sont proportionnellement analogues à ceux observés par d'autres auteurs avec des méthodes beaucoup plus lourdes, histochimiques en particulier.

B - ACTIVITES COMPAREES DES NAEVI NAEVO-CELLULAIRES AVEC ET SANS ACTIVITE JONCTIONNELLE

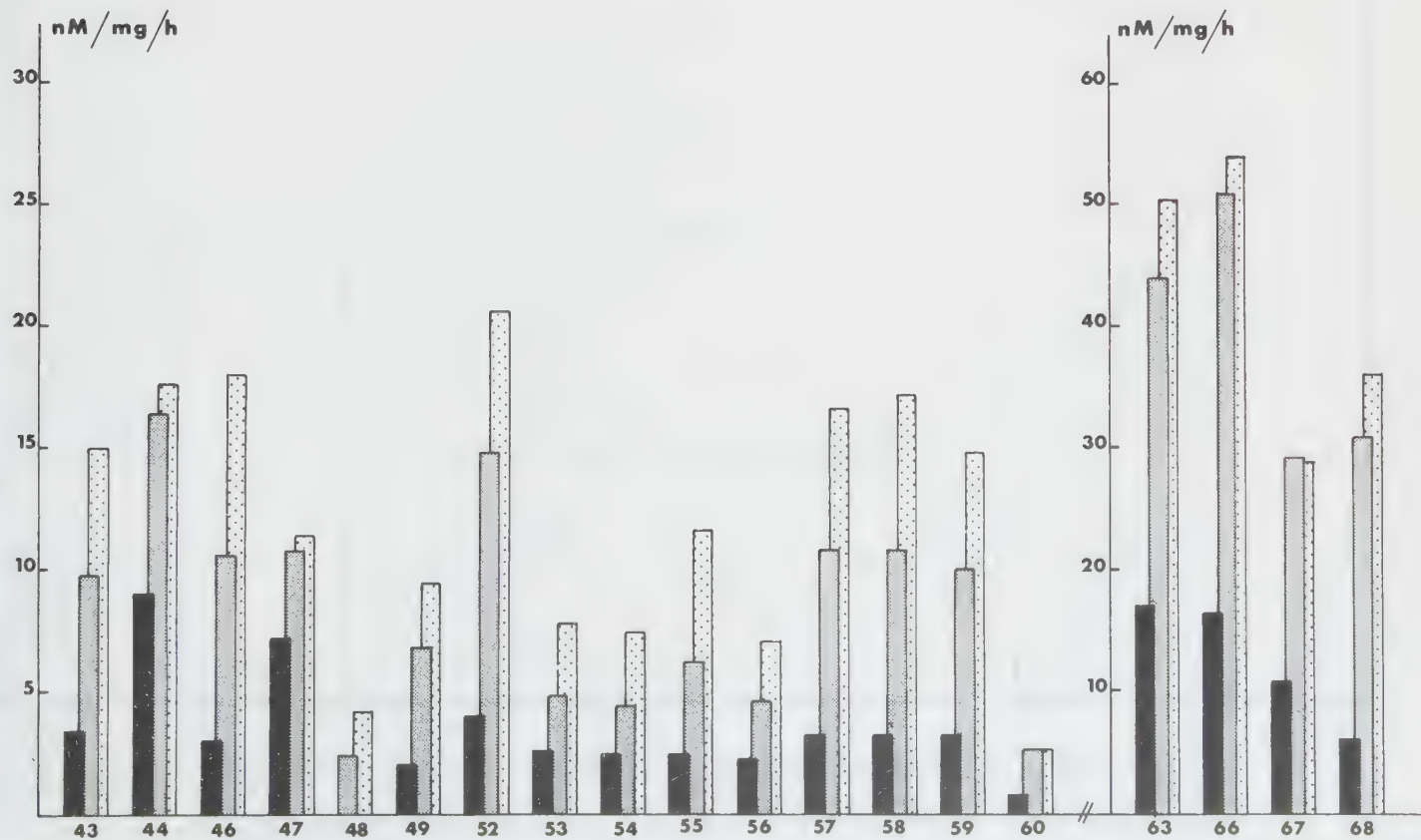
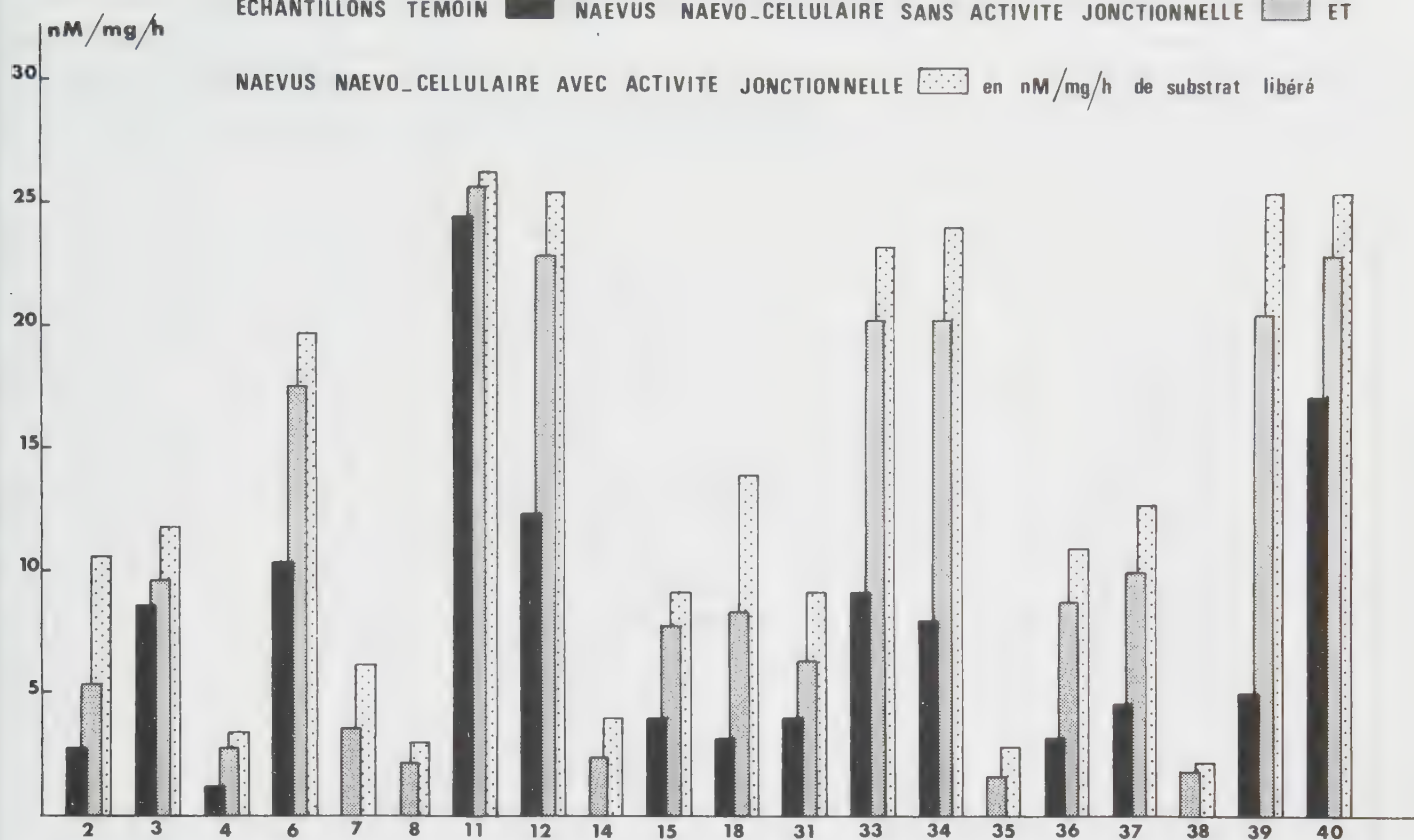
Nous avons comparé les activités enzymatiques des 12 prélèvements sans activité jonctionnelle, aux 9 pièces de biopsie présentant à l'examen macroscopique une activité jonctionnelle. Les résultats sont regroupés dans le tableau 21 et la Figure 8.

On a constaté qu'il existait entre ces deux échantillons une différence significative, en faveur des naevi naevo-cellulaires avec activité jonctionnelle.

Ceci avait été observé par plusieurs auteurs dont EADY et Coll. (74), ainsi que PETZOLDT (249). Ils avaient noté que les activités étaient plus importantes dans les cellules naeviques jonctionnelles, comparées à celles des cellules dermiques ou plus profondément situées.

Fig. 8 : VALEURS MOYENNES DES DIFFERENTES ACTIVITES ENZYMATIQUES DES

ECHANTILLONS TEMOIN ■ NAEVUS NAEVO_CELLULAIRE SANS ACTIVITE JONCTIONNELLE □ ET
 NAEVUS NAEVO_CELLULAIRE AVEC ACTIVITE JONCTIONNELLE ▨ en nM/mg/h de substrat libéré



NAEVI NAEVO-CELLU- LAIRES SANS ACTIVITE JONCTIONNELLE	N°	ACTIVITES ENZYMATIQUES	NAEVI NAEVO-CELLU- LAIRES AVEC ACTIVITE JONCTIONNELLE
$M \pm \sigma_m$ $\alpha = 0,05$			$M \pm \sigma_m$ $\alpha = 0,05$
5,3 $\pm$ 2,0	2	Phosphatase alcaline	10,6 $\pm$ 4,6
9,6 $\pm$ 2,2	3	Estérase (C4)	11,7 $\pm$ 3,3
2,8 $\pm$ 0,8	4	Estérase-lipase (C8)	3,3 $\pm$ 1,0
17,6 $\pm$ 3,7	6	L-leucine	19,8 $\pm$ 5,0
3,6 $\pm$ 1,7	7	L-valine	6,1 $\pm$ 3,9
2,2 $\pm$ 0,5	8	L-cystine	3,0 $\pm$ 0,4
25,8 $\pm$ 1,2	11	Phosphatase acide	26,4 $\pm$ 0,0
23,1 $\pm$ 1,9	12	Phosphoamidase	25,6 $\pm$ 1,6
2,4 $\pm$ 0,7	14	β D-galactosidase	3,9 $\pm$ 1,3
7,8 $\pm$ 3,5	15	β D-glucuronidase	9,1 $\pm$ 3,5
8,5 $\pm$ 2,2	18	β D-glucosaminidase	13,9 $\pm$ 3,9
6,4 $\pm$ 2,0	31	L-tyrosine	9,1 $\pm$ 3,8
20,3 $\pm$ 3,3	33	L-phénylalanine	23,4 $\pm$ 2,6
20,3 $\pm$ 3,3	34	L-lysine	24,2 $\pm$ 2,5
1,6 $\pm$ 1,0	35	L-hydroxyproline	2,7 $\pm$ 0,5
8,8 $\pm$ 3,2	36	L-histidine	11,0 $\pm$ 3,5
10,0 $\pm$ 2,9	37	L-glycine	12,8 $\pm$ 3,6
1,9 $\pm$ 0,8	38	α L-acide aspartique	2,2 $\pm$ 1,0
20,6 $\pm$ 3,0	39	L-arginine	25,6 $\pm$ 1,7
23,1 $\pm$ 2,8	40	DL-alanine	25,6 $\pm$ 1,7
9,7 $\pm$ 2,7	43	S-benzoyl-L-cystéine	15,0 $\pm$ 2,5
16,5 $\pm$ 1,9	44	Chymotrypsine	17,6 $\pm$ 2,1
10,5 $\pm$ 2,9	46	Glycyl-glycine	17,9 $\pm$ 1,8
10,7 $\pm$ 2,8	47	Glycyl-L-phénylalanine	11,3 $\pm$ 3,0
2,4 $\pm$ 2,3	48	Glycyl-L-proline	4,1 $\pm$ 2,3
6,7 $\pm$ 3,5	49	L-leucyl glycine	9,3 $\pm$ 3,0
14,7 $\pm$ 3,7	52	L-glutamine	20,5 $\pm$ 3,9
4,8 $\pm$ 1,8	53	α L-acide glutamique	7,7 $\pm$ 2,5
4,4 $\pm$ 1,8	54	L-isoleucine	7,3 $\pm$ 2,7
6,2 $\pm$ 2,2	55	L-ornithine	11,5 $\pm$ 3,3
4,5 $\pm$ 1,9	56	L-proline	6,9 $\pm$ 1,9
10,7 $\pm$ 3,2	57	L-sérine	16,5 $\pm$ 4,3
10,7 $\pm$ 3,2	58	L-thréonine	17,2 $\pm$ 4,3
10,0 $\pm$ 2,8	59	L-tryptophane	14,8 $\pm$ 3,6
2,5 $\pm$ 2,4	60	NCBZ-glycyl-glycyl-L-arginine	2,6 $\pm$ 1,1
44,5 $\pm$ 7,9	63	G-6-PDH	50,1 $\pm$ 7,8
50,9 $\pm$ 5,2	66	LDH	54,1 $\pm$ 6,5
29,6 $\pm$ 8,0	67	MDH	29 $\pm$ 9,9
31,1 $\pm$ 10,2	68	6-PGDH	35,6 $\pm$ 9,0

TABLEAU 21 : COMPARAISON DES ACTIVITES ENZYMATIQUES MOYENNES DES NAEVI NAEVO-CELLULAIRES AVEC ET SANS ACTIVITE JONCTIONNELLE, EN nM/mg/h DE SUBSTRAT LIBERE.

PAUL et ILLIG ont confirmé cette donnée, mais constataient également que les cellules naeviques "géantes" présentaient une plus grande activité, en particulier déshydrogénase, que les autres cellules (247).

Toutes les réactions sont plus élevées dans les prélèvements avec activité jonctionnelle, mais les différences sont plus ou moins marquées comme nous l'observons dans la Figure 8.

Certaines activités, que nous allons voir maintenant, sont plus nettement augmentées :

- L'activité phosphatase alcaline double dans les pièces de biopsie avec activité jonctionnelle, 10,6 nM/mg/h au lieu de 5,3 nM/mg/h.

Dans un travail datant de 1957 sur la phosphatase alcaline, KOPF posait la question de savoir si l'accroissement de cette activité d'un naevus à l'autre pouvait indiquer une éventuelle transformation maligne.

- La N-acétyl- β D-glucosaminidase, dont nous avons déjà parlé en tant que caractère discriminatif des proliférations naeviques, présente elle aussi une différence importante, 14 nM/mg/h pour 8,8 nM/mg/h sans activité jonctionnelle.

- Il en est de même de la glycyl-glycine-2-naphtylamidase (C.46), qui passe de 10,5 nM/mg/h à 18 nM/mg/h avec activité jonctionnelle.

- D'autres amino-peptidases présentent une différence d'activité marquée. C'est le cas de la L-glutamine-2-naphtylamidase (C.52), de la L-ornithine-2-naphtylamidase (C.55), de la L-sérine-2-naphtylamidase (C.57), de la L-thréonine-2-naphtylamidase (C.58) et de la L-tryptophane-2-naphtylamidase (C.59).

Il est intéressant de noter que les enzymes de ce groupe correspondent à celles dont les activités sont les plus discriminatives par rapport au psoriasis.

C - CONCLUSIONS

Le premier élément est la mise en évidence d'un nombre d'activités supérieur à la peau saine témoin et dont l'intensité est beaucoup plus élevée. Ceci est en faveur d'un métabolisme important des cellules naeviques.

Si la plupart des réactions présente des taux, bien que supérieurs, analogues à ceux du psoriasis, certaines d'entre elles s'en démarquent et caractérisent ainsi la prolifération naevique. Il s'agit des activités suivantes :

- N-acétyl- β D-glucosaminidase (C.18)
- L-histidine-2-naphtylamidase (C.37)
- L-glutamine-2-naphtylamidase (C.52)
- α L-acide glutamique-2-naphtylamidase (C.53)
- L-ornithine-2-naphtylamidase (C.55)
- L-sérine-2-naphtylamidase (C.57)
- L-thréonine-2-naphtylamidase (C.58)
- L-tryptophane-2-naphtylamidase (C.59)

Nos résultats corroborent en deux points fondamentaux ceux de la littérature :

- d'une part, l'importante activité des déshydrogénases et particulièrement celle de la voie de la glycolyse, la lactate déshydrogénase ; à un moindre degré celles du cycle de l'acide citrique et de la chaîne respiratoire.

- d'autre part, la confirmation qu'existent des différences d'activités notables entre les naevi naevo-cellulaires avec et sans activité jonctionnelle. La réponse enzymatique du naevus avec activité jonctionnelle se rapprochant de celle du mélanome malin, mais il est difficile, pour l'instant, d'en tirer plus amples conclusions.

Les caractères qui présentent, entre les naevi avec et sans activité jonctionnelle, la différence d'activité la plus marquée, sont les suivants :

- phosphatase alcaline (C.2)
- β D-glucosaminidase (C.18)
- glycyl-glycine-2-naphtylamidase (C.46)
- L-glutamine-2-naphtylamidase (C.52)
- L-ornithine-2-naphtylamidase (C.55)
- L-sérine-2-naphtylamidase (C.57)
- L-thréonine-2-naphtylamidase (C.58)
- L-tryptophane-2-naphtylamidase (C.59)

Plusieurs de ces caractères sont les mêmes que ceux qui différencient la réponse enzymatique des cellules naeviques à celle du psoriasis.

Ces données confirment que la méthode utilisée est sensible et reproductible, nous permettant d'analyser de nombreuses activités, dont les protéases peu étudiées jusqu'à présent.

V - ACTIVITES ENZYMATIQUES DU MELANOME MALIN

Le mélanome malin, tumeur maligne développée à partir d'un mélanocyte, est une des plus graves parmi les tumeurs en général et les tumeurs cutanées en particulier.

Plusieurs études ont révélé les activités enzymatiques du mélanome, mais celles-ci ont surtout porté sur les enzymes du métabolisme énergétique.

Nous avons réuni, pour ce travail, trois prélèvements dont nous allons maintenant analyser les résultats.

A - REACTIONS NON REVELEES

Ce sont sensiblement les mêmes que celles notées dans l'échantillon de naevi naevo-cellulaires. Il s'agit des activités suivantes :

- Trypsine (C.9)
- Chymotrypsine (C.10)
- α D-galactosidase (C.13)
- γ L-acide glutamique transpeptidase (C.41)
- N-benzoyl-L-leucine-2-naphtylamidase (C.42)
- L-séryl-L-tyrosine-2-naphtylamidase (C.50)
- N-CBZ-L-arginyl-4-méthoxy-2-naphtylamidase (C.51).

Un certain nombre de réactions ont été révélées dans un des trois prélèvements, à des taux faibles de l'ordre de 2 ou 3,3 nM/mg/h :

- α D-glucosidase (C.16)
- α D-mannosidase (C.19)
- N-CBZ-glycyl-glycyl-L-arginine-2-naphtylamidase (C.60)
- α -glycérophosphate déshydrogénase (C.64).

Cette réaction déshydrogénase s'est positivée dans un des prélèvements à 5,9 nM/mg/h. Dans une étude enzymatique sur le mélanome malin humain, BRAUN-FALCO et PETZOLDT ont constaté une activité α -glycérophosphate déshydrogénase assez importante dont l'intensité était située entre celles de la glucose-6-phosphate déshydrogénase et de la 6-phosphogluconate déshydrogénase (37).

Notre résultat se rapproche plus de celui de CERIMELE et Coll. pour lesquels l'activité α -glycérophosphate déshydrogénase est trois fois plus faible que celles des enzymes du shunt des pentoses (52).

B - REACTIONS REVELEES

Mises à part deux déshydrogénases supplémentaires (d'ailleurs révélées dans 2 naevi naevo-cellulaires sans activité jonctionnelle), les réactions sont les mêmes que celles de l'échantillon précédemment étudié.

Le mélanome malin présente les activités les plus élevées, en particulier pour certaines amino-peptidases et tout spécialement pour les déshydrogénases, ce qui est en faveur d'un métabolisme énergétique élevé.

Nous portons dans le tableau 22 la moyenne des activités des 3 prélèvements analysés. La Figure 9 rapporte ces valeurs sous la forme d'un histogramme, comparées à celles de la peau saine témoin.

1 - Les phosphatases

L'accroissement de l'activité phosphatase alcaline est importante puisqu'elle quadruple par rapport à la peau saine, avec 11 nM/mg/h. Elle reste néanmoins inférieure aux autres phosphatases, ce qui confirme les résultats de BRAUN-FALCO et PETZOLDT (37).

La phosphatase acide atteint dans les trois prélèvements la saturation visuelle, c'est-à-dire 26,4 nM/mg/h et plus. Son activité est vraisemblablement beaucoup plus élevée que ce que nous indiquons. DREWA et Coll. ont dosé plusieurs hydrolases dans le mélanome de hamster. La phosphatase acide était celle dont la réaction était la plus intense (72). D'après BRAUN-FALCO et PETZOLDT, cette activité se localiserait surtout dans les groupes cellulaires en voie de migration apparente vers le derme.

Il en est de même de la phosphoamidase avec 26,4 nM/mg/h dans les trois biopsies. Nous arrivons là à une limite de la méthode API ; ne pas pouvoir discerner laquelle de ces réactions est la plus importante. En fait, cette limite n'est pas infranchissable, une plus grande dilution nous permettrait de faire cette distinction.

2 - Les estérases, lipases

L'activité des estérases non spécifiques, 12,1 nM/mg/h, est la plus forte, pour décroître progressivement au fur et à mesure que la chaîne carbonée de substrat au naphthol augmente.

Cependant, comme nous l'avions déjà constaté pour les naevi naevo-cellulaires, il nous semble que la différence d'activité entre mélanome et peau saine est d'autant plus marquée que cette chaîne carbonée augmente.

JARRETT et RILEY ont montré que les cellules mélaniques contenaient une forte activité en estérases non spécifiques (157).

D'après BRAUN-FALCO et PETZOLDT, cette activité se verrait plutôt dans les zones marginales des tumeurs (37).

3 - Les glycosidases

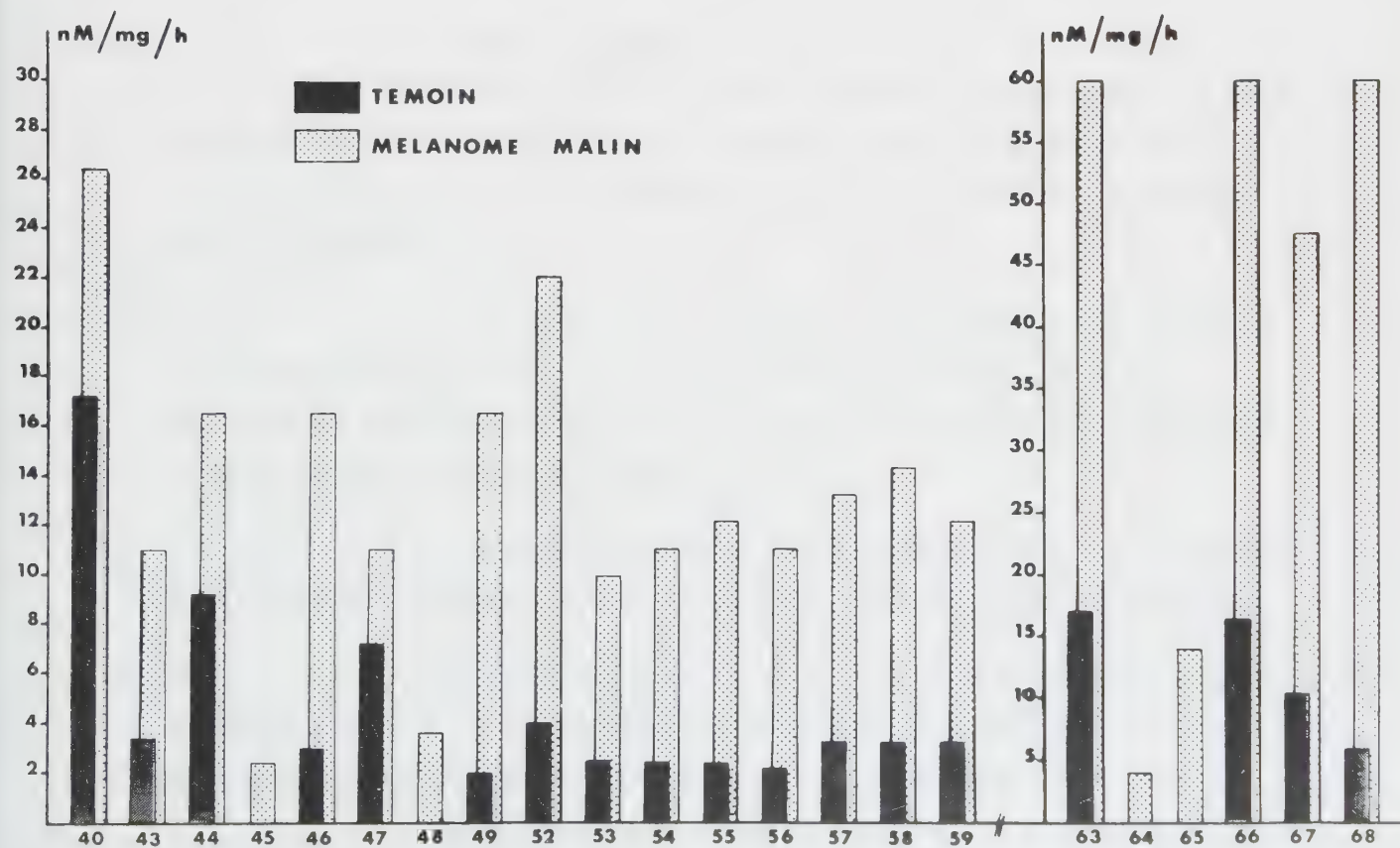
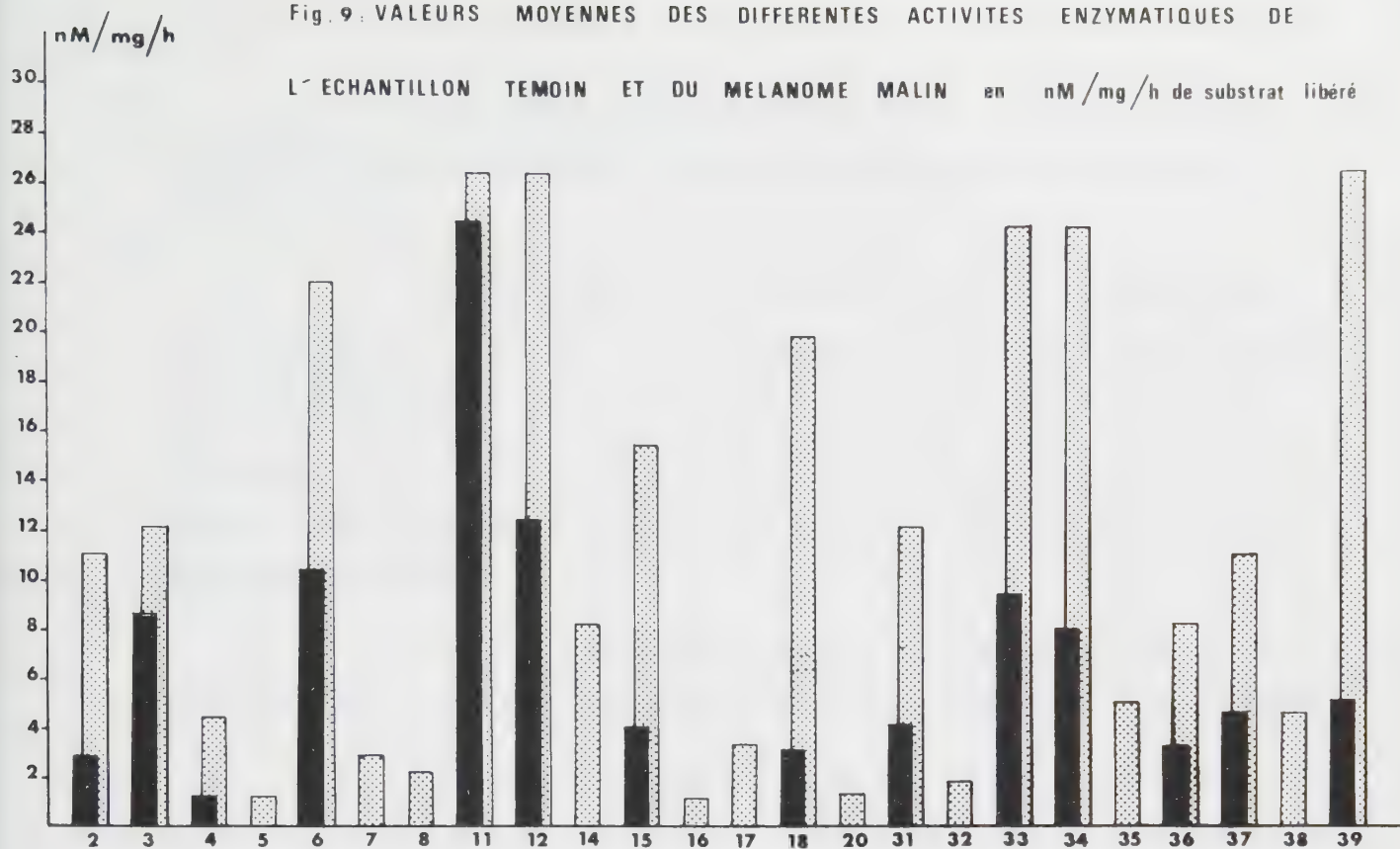
Apparaissent par rapport au naevi deux activités supplémentaires, mais dans un seul des trois prélèvements : l' α D-glucosidase et l' α D-mannosidase. Cette dernière, très faible, n'est pas rapportée dans la Figure 9.

TEMOIN	N°	ACTIVITES ENZYMATIQUES	MELANOME MALIN		
$M + \sigma_m$ $\alpha = 0,05$			M	Min.	Max
5,3 + 2,0	2	Phosphatase alcaline	11	6,6	13,2
9,6 + 2,2	3	Estérase (C4)	12,1	6,6	16,5
2,8 + 0,8	4	Estérase-lipase (C8)	4,4	3,3	6,6
-	5	Lipase (C14)	1,3	0	2
17,6 + 3,7	6	L-leucine	22,0	19,8	26,4
3,6 + 1,7	7	L-valine	2,8	2	3,3
2,2 + 0,5	8	L-cystine	2,2	0	3,3
25,8 + 1,2	11	Phosphatase acide	26,4	26,4	26,4
23,1 + 1,9	12	Phosphoamidase	26,4	26,4	26,4
2,4 + 0,7	14	β D-galactosidase	8,2	5	13,2
7,8 + 3,5	15	β D-glucuronidase	15,4	6,6	26,4
-	17	β D-glucosidase	3,3	3,3	3,3
8,5 + 2,2	18	β D-glucosaminidase	19,8	19,8	19,8
-	20	α L-fucosidase	1,3	0	2
6,4 + 2,0	31	L-tyrosine	12,1	9,9	13,2
-	32	L-pyrrolidonyl peptidase	1,7	0	3,3
20,3 + 3,3	33	L-phénylalanine	24,2	19,8	26,4
20,3 + 3,3	34	L-lysine	24,2	19,8	26,4
1,6 + 1,0	35	L-hydroxyproline	5,0	2	6,6
8,8 + 3,2	36	L-histidine	8,2	5	13,2
10,0 + 2,9	37	L-glycine	11,0	6,6	13,2
1,9 + 0,8	38	α L-acide aspartique	4,5	2	6,6
20,6 + 3,0	39	L-arginine	26,4	26,4	26,4
23,1 + 2,8	40	DL-alanine	26,4	26,4	26,4
9,7 + 2,7	43	S-benzoyl-L-cystéine	11,0	6,6	13,2
16,5 + 1,9	44	Chymotrypsine	16,5	13,2	19,8
-	45	L-méthionine	2,4	2	3,3
10,5 + 2,9	46	Glycyl-glycine	16,5	9,9	26,4
10,7 + 2,8	47	Glycyl-L-phénylalanine	11,0	3,3	19,8
2,4 + 2,3	48	Glycyl-L-proline	3,5	2	6,6
6,7 + 3,5	49	L-leucylglycine	16,5	6,6	26,4
14,7 + 3,7	52	L-glutamine	22,0	19,8	26,4
4,8 + 1,8	53	α L-acide glutamique	9,9	6,6	13,2
4,4 + 1,8	54	L-isoleucine	11,0	6,6	13,2
6,2 + 2,2	55	L-ornithine	12,1	6,6	16,5
4,5 + 1,9	56	L-proline	11,0	3,3	16,5
10,7 + 3,2	57	L-sérine	13,2	6,6	19,8
10,7 + 3,2	58	L-thréonine	14,3	9,9	19,8
10,0 + 2,8	59	L-tryptophane	12,1	9,9	13,2
44,5 + 7,9	63	G-6-PDH	59,4	59,4	59,4
-	64	α -GPDH	4,0	0	11,9
-	65	IDH	13,8	5,9	23,8
50,9 + 5,2	66	LDH	59,4	59,4	59,4
29,6 + 8,0	67	MDH	47,5	35,6	59,4
31,1 + 10,2	68	6-PGDH	59,4	59,4	59,4

TABLEAU 22 : VALEURS MOYENNES DES ACTIVITES ENZYMATIQUES DU MELANOME MALIN,

EN nM/mg/h (N = 3).

Fig. 9 : VALEURS MOYENNES DES DIFFERENTES ACTIVITES ENZYMATIQUES DE
L'ECHANTILLON TEMOIN ET DU MELANOME MALIN en nM/mg/h de substrat libéré



- L'activité β D-galactosidase (C.14) est de l'ordre de 8 nM/mg/h. Elle n'avait pas été mise en évidence dans l'échantillon témoin.

- La réaction β -glucuronidase (C.15) est importante, avec une activité à 15,4 nM/mg/h. Etudiée par plusieurs auteurs dans le mélanome B16 de la souris (308) et chez le hamster (72), son augmentation est forte par rapport à la peau normale et, comme nous le verrons ultérieurement, par rapport aux naevi pigmentaires bénins. D'après VAQUERO et Coll., son activité ne serait pas liée au caractère mélanocytaire du mélanome B16 (308).

- La réaction N-acétyl- β D-glucosaminidase (C.18) est la plus forte de toutes les glycosidases révélées. Elle atteint 19,8 nM/mg/h.

- La β D-glucosidase est modérée, 3,3 nM/mg/h.

4 - Les protéases

La grande majorité des caractères protéasiques que nous offre la méthode API a été mise en évidence dans le mélanome malin. Si la plupart d'entre elles présente une activité modérée, certaines sont très élevées.

- La leucine amino-peptidase (C.6) révèle une activité à 22 nM/mg/h de substrat libéré. Selon BRAUN-FALCO et PETZOLDT, celle-ci se retrouverait plus spécialement aux parties marginales des nids de cellules tumorales (37).

- Les caractères 33 et 34, L-phénylalanine et L-lysine-2-naphtylamidase, présentent une forte activité identique, 24,1 nM/mg/h.

- La L-arginine et la DL-alanine-2-naphtylamidase (C.39 et 40) arrivent à la saturation visuelle avec 26,4 nM/mg/h. Il s'agit des deux aminopeptidases dont l'activité est la plus importante.

Il a été mis en évidence dans les lysosomes de foie de rat une arylamidase qui hydrolyse préférentiellement le L-argynil-2-naphtylamide (189).

- L'activité arylamidase de type ocytocinase montre, avec le S-benzyl-L-cystéil-2-naphtylamide (substrat 43), une réaction à 11 nM/mg/h. Avec le L-cystyl-di-2-naphtylamide (substrat 8), cette activité est beaucoup plus faible, 2,2 nM/mg/h et seulement présente dans deux prélèvements.

- La L-glutamine-2-naphtylamidase (C.52) a une activité élevée, 22 nM/mg/h.

Il ne nous est pas possible de comparer ces résultats à ceux de la littérature, ces différentes activités n'ayant pas été étudiées, mise à part la leucine aminopeptidase.

Au décours de ces résultats, nous observons que plusieurs enzymes hydrolytiques présentent dans le mélanome malin des activités importantes, telles certaines phosphatases et aminopeptidases. Ce n'est pas le cas des constatations de SZODORAY et NAGY-VEZEKENYI (299), de BRAUN-FALCO et PETZOLDT (37), pour lesquels les activités hydrolytiques, bien que variables, sont en général d'une faible intensité.

5 - Les déshydrogénases

Nous observons de fortes réactions, en faveur d'un métabolisme énergétique important des cellules mélaniques. Cette constatation rejoint celles de CERIMELE et Coll. (52), BRAUN-FALCO et PETZOLDT (37).

- Cet accroissement du métabolisme énergétique est très marqué pour les enzymes du shunt des pentoses, la glucose-6-phosphate déshydrogénase et la 6-phosphogluconate déshydrogénase, qui atteignent toutes deux la saturation visuelle avec une activité à 59,4 nM/mg/h. Celle-ci est probablement beaucoup plus importante, le surplus d'activité éventuel n'ayant pu être déterminé.

L'augmentation du métabolisme du shunt des pentoses avait été notée par les deux auteurs précédemment cités.

L'hyperactivité des enzymes du shunt des pentoses semblerait indiquer, non seulement une libération accentuée de pentoses pour la synthèse d'acides nucléiques, mais aussi une mise à disposition accrue d'hydrogène pour les processus de synthèse. En effet, les cellules mélaniques sont riches en ribosomes, soit libres soit liés au réticulum endoplasmique (351), ce qui plaide en faveur d'une activité de synthèse importante de ces cellules.

- La lactate déshydrogénase possède également une importante activité dans le mélanome malin, vraisemblablement supérieure aux 59,4 nM/mg/h indiqués. Ceci rejoint les données de CERIMELE et Coll. (52), de BRAUN-FALCO et PETZOLDT (37).

Ce dernier considère que la lactate déshydrogénase "se distingue par son activité remarquable" et enregistre dans les cellules mélaniques humaines un métabolisme énergétique élevé, avec une nette accentuation du métabolisme glycolytique et de la formation de l'acide lactique (37).

- La malate déshydrogénase se caractérise par un taux d'activité élevé, 47,5 nM/mg/h, mais celui-ci est inférieur aux déshydrogénases précédentes, ce qui est en rapport avec les données de BRAUN-FALCO et PETZOLDT (37).

- Autre enzyme du cycle tricarboxylique de KREBS, l'isocitrate déshydrogénase est révélée dans les trois prélèvements. Le mélanome est le premier échantillon dans lequel apparaît de façon constante cette déshydrogénase. Avec une moyenne à 13,8 nM/mg/h, cette activité, obtenant 23,8 nM/mg/h dans un prélèvement, reste très inférieure à celle des autres déshydrogénases. Il ne semble donc pas que les enzymes du cycle de KREBS présentent une augmentation d'activité aussi marquée que celles de la voie de la glycolyse ou du shunt des pentoses.

- L' α -glycérophosphate déshydrogénase n'a été mise en évidence que dans un seul prélèvement, à une activité de 11,9 nM/mg/h.

C - ACTIVITES COMPAREES DES NAEVI NAEVO-CELLULAIRES ET DES MELANOMES MALINS

Les activités enzymatiques de ces deux échantillons sont représentées dans la Figure 7.

Mises à part l'isocitrate et l' α -glycérophosphate déshydrogénase, non représentées, nous constatons que les caractères révélés sont les mêmes dans ces deux échantillons. Change l'intensité des activités, dont la différence reste modérée dans la plupart des cas et, comme l'écrivent BRAUN-FALCO et PETZOLDT (37), "on retrouve dans les cellules naeviques de la zone de jonction le métabolisme du mélanome humain".

Certaines réactions, néanmoins, présentent une différence d'activité assez marquée :

- C'est le cas de quelques glycosidases dont la β D-galactosidase et la β D-glucuronidase, et surtout la N-acétyl- β D-glucosaminidase dont nous avons déjà noté l'accroissement important dans les naevi. Il en est de même du mélanome par rapport au naevus, et il semble donc qu'elle soit assez spécifique des proliférations naeviques et mélaniques.

- Parmi les aminopeptidases, la L-leucylglycine-2-naphtylamidase est celle dont la différence d'activité est la plus nette.

- Restent les déshydrogénases dont nous avons évoqué l'importance dans le mélanome malin chez l'homme.

D - CONCLUSIONS

Le mélanome malin est, des affections dermatologiques étudiées dans ce travail, celui dont les activités enzymatiques sont les plus intenses.

La première conclusion se rapporte à la β D-glucosaminidase. Il nous semble que ce caractère soit discriminatif des proliférations naeviques et mélaniques. Son activité, déjà très augmentée dans les naevi sans activité jonctionnelle, ne cesse de s'accroître dans les naevi avec activité jonctionnelle, pour être maximale dans le mélanome malin.

Nos résultats confirment deux données concernant les déshydrogénases :

- L'hyperactivité des enzymes du shunt des pentoses, ce qui semblerait indiquer une libération accrue de pentoses pour la synthèse d'acides nucléiques.

- L'importante activité lactate déshydrogénase, qui révèle une accentuation du métabolisme glycolytique et de la formation d'acide lactique dans le mélanome malin.

Le taux des activités enzymatiques du mélanome malin, bien que légèrement supérieur, est analogue à celui des naevi naevo cellulaires avec activité jonctionnelle.

Il nous est difficile de tirer des conclusions plus approfondies, d'autant que d'après BRAUN-FALCO (37) "on ne peut pas apprécier le caractère malin ou bénin d'une tumeur à cellules pigmentaires par la détermination histochimique de l'intensité de son métabolisme énergétique".

Il n'en reste pas moins vrai que nos activités, comparées à celles du mélanome malin et du naevus avec activité jonctionnelle, rejoignent en tous points ceux de la littérature.

CONCLUSIONS

Au terme de ce travail, plusieurs conclusions peuvent être tirées, tant en ce qui concerne la méthode que les résultats observés.

Le dispositif API ZYM nous a permis de pratiquer simultanément 67 tests enzymatiques dont ceux de 35 protéases, enzymes peu étudiées au niveau de la peau.

De nombreux arguments pourraient être opposés à ce microdispositif :

- la gamme des 67 caractères ne concerne que deux classes d'enzymes : les hydrolases et les déshydrogénases.
- les conditions dans lesquelles se déroulent les différentes réactions ne sont pas toujours optimales.

Néanmoins, si la perturbation d'un des mécanismes cellulaires affecte des enzymes "cibles" que nous ne pouvons pas déceler, elle doit se répercuter sur d'autres systèmes enzymatiques. La méthode API doit donc, dans bien des cas, rendre compte de ce désordre métabolique.

Pour ce qui est des conditions de réaction, elles résultent d'un ensemble de compromis ayant permis justement la mise en place de ce microdispositif.

Quoiqu'il en soit, nos résultats permettent d'affirmer :

- la reproductibilité de la méthode
- Celle-ci nous a permis d'obtenir et de constater :
- l'homogénéité des échantillons étudiés.

Ceci ne s'applique guère au vitiligo, mais il semblerait que le petit nombre de prélèvements en soit la cause.

La plupart des objectifs que nous nous étions fixés dans ce travail ont été atteints :

En premier lieu, la comparaison de nos résultats à ceux de la littérature :

- Les taux des activités révélées sont, dans l'ensemble, très inférieurs à ceux de la littérature. Ceci n'est pas étonnant et reste secondaire, car là n'était pas le but de notre travail. Ces valeurs chiffrées n'avaient la prétention, même si elles reposent sur une réalité, que de nous permettre d'établir des comparaisons entre les différents échantillons.

Néanmoins, les proportions observées entre nos différentes activités correspondent en tous points à celles de la littérature. Pour ne citer qu'un exemple, nous confirmons que la glucose-6-phosphate déshydrogénase présente dans la peau normale, une activité double à celle de la 6-phosphogluconate déshydrogénase.

Cette première conclusion est fondamentale car elle montre que l'échelle des réactions établie avec la méthode API est comparable à celle obtenue par des méthodes histochimiques.

Le second objectif était l'établissement d'un "zymogramme" pour la peau saine normale et chacune des affections étudiées. Ce but atteint, il pouvait nous permettre de caractériser d'éventuelles activités, propres à telle ou telle affection.

- Le zymogramme de la peau saine est en accord avec les données de la littérature. Nous apportons cependant d'intéressants résultats pour les amino-peptidases jusque là peu étudiées, mise à part la leucine amino-peptidase.

- Les activités de la plaque psoriasique doublent, en moyenne, par rapport à celles de la peau saine. Cette observation confirme une notion bien connue : l'hypermétabolisme cellulaire.

De plus, nous constatons une déviation du métabolisme du glucose vers le shunt des pentoses.

Enfin, l'intensité des activités enzymatiques de la peau saine normale et de la peau apparemment saine de psoriasis est analogue. Il se dégage cependant une tendance : la révélation plus fréquente de certaines activités dans la peau apparemment saine de psoriasis. Il serait intéressant d'approfondir cette donnée par une étude portant sur un nombre plus élevé de prélèvements.

- L'échantillon de vitiligo nous a apporté peu d'éléments et les activités sont sensiblement analogues entre la lésion et la peau saine de vitiligo. Certaines d'entre elles ont présenté des différences notables, mais les résultats observés entre les différents échantillons étaient discordants vraisemblablement liés au petit nombre de prélèvements étudiés.

- Les naevi naevo-cellulaires ont été riches d'enseignements qui demanderaient à être approfondis.

Si l'intensité de la plupart des réactions correspond à celle du psoriasis, certaines activités se détachent et caractérisent la prolifération naevique. C'est le cas surtout de la β D-glucosaminidase.

Nos résultats corroborent plusieurs données de la littérature :

. le métabolisme énergétique élevé des cellules naeviques particulièrement en ce qui concerne les enzymes de la voie de la glycolyse, la lactate déshydrogénase surtout.

. la confirmation qu'existent des différences d'activités notables entre les naevi naevo-cellulaires avec et sans activité jonctionnelle. Il serait intéressant de faire dans ce domaine une étude plus poussée, centrée sur les activités présentant la plus grande différence.

- Le mélanome malin présente les réactions les plus intenses, tant en ce qui concerne les hydrolases que les déshydrogénases. L'activité de ces dernières confirme le métabolisme énergétique élevé de cette prolifération maligne, particulièrement pour les enzymes du shunt des pentoses, ce qui semblerait indiquer une synthèse accrue d'acides nucléiques.

Le profil enzymatique du mélanome malin se rapproche de celui des naevi naevo-cellulaires avec activité jonctionnelle. La β D-glucosaminidase nous semble être une activité importante dans ces processus prolifératifs. Si son intensité augmente dans les naevi naevo-cellulaires avec activité jonctionnelle, elle devient encore plus marquée dans les cellules mélaniques.

Ce caractère semble assez spécifique de ces proliférations et il nous paraît intéressant de poursuivre, dans cette voie, cette étude.

Thèse
Le Président de la Thèse

Vu, Le Doyen de la Faculté de
Médecine Alexis Carrel,

Vu et Permis d'imprimer

LYON, Le 13 Novembre 1979

Le Président de l'Université
Président du Comité de Coordination
des Etudes Médicales,

Professeur R. MORNEX

Professeur D. GERMAIN

ANNEXES

ANNEXE I

OBSERVATIONS CLINIQUES RESUMEES DES PATIENTS ATTEINTS DE PSORIASISObservation N°1: FAU... Francis

Jeune homme de 21 ans, sans passé médical notable et en particulier dermatologique. Aucune notion de psoriasis dans la proche famille et collatéraux. Vu en consultation le 2 novembre 1978 pour une première poussée remontant à la mi-septembre 1978, ayant débutée au tronc, avec extension rapide au cuir chevelu et surtout aux membres inférieurs.

Aspect de psoriasis GUTTATA.

Biopsie réalisée le 6 novembre à la face dorsale de la cuisse gauche, après 3 jours de traitement par dermo-corticoïdes. L'examen anatomo-pathologique confirme le diagnostic clinique.

Donc: psoriasis guttata évoluant depuis 2 mois.

Observation N°2: DEP... Michel

Malade de 46 ans, obèse, éthyl, hospitalisé en cardiologie pour bilan de tachycardies paroxystiques. Pas de notion de psoriasis dans la famille. Début de l'affection en janvier 1955. On retrouve une angine 3 semaines avant la première poussée. Est alors hospitalisé pour traitement à l'hôpital militaire de Fribourg. Aucun traitement de cette période à maintenant.

A l'examen, le 6 novembre 1978, aspect de psoriasis UNIVERSALIS très évolué, avec quelques réserves de peau saine. Biopsie réalisée le jour même au niveau de la fosse lombaire gauche.

Donc: psoriasis ancien évoluant depuis 23 ans.

Observation N°3: VER... Solange

Patiente de 63 ans, d'origine vietnamienne, vue en consultation en août 1978 pour une dermatose psoriasiforme du cuir chevelu évoluant depuis fin juin de la même année. L'aspect clinique initial n'est pas évocateur du psoriasis. Le diagnostic est évoqué devant l'extension des lésions à l'ensemble du tégument. Un traitement par dermo-corticoïdes est entrepris à la mi-octobre. Devant un résultat médiocre, une biopsie est pratiquée le 15 novembre au niveau de l'avant bras gauche. Traitement local interrompu 10 jours avant la biopsie.

L'examen anatomo-pathologique confirme le diagnostic avec des aspects d'abcès de Sabouraud.

Donc: psoriasis guttata évoluant depuis 4 mois.

Observation N°4: FUC... Otto

Homme de 58 ans qui présentait un psoriasis évoluant depuis 1 an. Sans antécédent dermatologique, opéré en 1973 d'un ulcère perforé, et 3 ans plus tard nouvelle intervention pour prothèse totale de hanche.

Lésions étendues, en placard, avec distribution élective aux coudes et aux genoux, mais existence d'éléments érythémato-squameux au tronc et aux bras.

Biopsie le 27 novembre 1978: hyperkératose ortho et parakératosique avec hyperacanthose.

Donc: psoriasis typique évoluant depuis 1 an.

Observation N°5: MUL... Serge

Malade de 19 ans, vu en consultation en décembre 1978 pour une dermatose psoriasiforme évoluant depuis février 1978, dont le début a succédé à une angine. Lésions peu squameuses atteignant le tronc, les membres, le cuir chevelu. Existence au niveau d'un tatouage récent d'un phénomène de Kobner important qui redessine tout le pourtour du tatouage. Biopsie réalisée à l'avant bras droit avant tout traitement. Donc: psoriasis typique évoluant depuis 10 mois.

Observation N°6: SAI... Roland

Jeune homme de 20 ans, sans antécédent médical et dermatologique. Pas de notion de psoriasis dans la famille. Le début de son affection remonte à 8 mois par des lésions érythémato-squameuses, non prurigineuses, du cuir chevelu, du thorax, des bras et des genoux. Les lésions, très squameuses, sont de petites dimensions sans évoquer un guttata. Biopsie cutanée réalisée au bras droit à la mi-décembre avant tout traitement. Donc: psoriasis typique évoluant depuis 8 mois.

Observation N°7: VIN... Charles

Première poussée remontant à l'âge de 10 ans. C'est à 20 ans, en octobre 1978, qu'apparaît une deuxième poussée avec des lésions érythémato-squameuses, diffuses, évoquant un psoriasis guttata. Les lésions prédominent aux bras, au tronc, aux fesses. Au niveau des coudes et des genoux, celles-ci sont plus confluentes, sans former véritablement un placard. On note un respect du cuir chevelu et une absence de psoriasis dans la famille. Biopsie d'une lésion du flanc droit début janvier 1979, alors que le patient avait déjà été traité à plusieurs reprises. Donc: psoriasis guttata biopsé après 3 mois de poussée.

Observation N°8: DOL... Eric

Début remontant à 2 ans, par des lésions du cuir chevelu, des coudes et des genoux, blanchies après traitement. Agé de 21 ans, il est vu en consultation en janvier 1979. Présentait des lésions disséminées au tronc et au mollet, en placard aux coudes et aux genoux. Biopsie réalisée avant traitement au mollet gauche. Donc: psoriasis typique biopsé après 2 mois de poussée.

Observation N°9: BOI... Jean-Claude

La première poussée, chez cet homme de 38 ans, remonte à 1976, quelques jours après une appendicectomie. Après une accalmie de 2 ans, est vu en consultation pour une seconde poussée datant de 20 jours. Lésions aux coudes et au cuir chevelu. Le reste du tégument est indemne. Biopsie effectuée au coude droit le 26 janvier 1979 qui confirme le diagnostic. Donc: Psoriasis biopsé après 20 jours de poussée.

Observation N°10: CAM... Bernard

Ce malade de 22 ans présentait des lésions érythémato-squameuses du front et des

coudes, traitées par lui-même une semaine avant la consultation par des corticoïdes locaux. Le remaniement lésionnel post thérapeutique ne nous permet pas d'affirmer le psoriasis, bien qu'il ait eu une première poussée en 1974. Lui ayant demandé l'arrêt de tout traitement, une biopsie du coude est réalisée le 26 février 1979.

Donc: psoriasis biopsé 1 mois après la poussée.

Observation N°11: COU... Bernard

La mère et la soeur de ce patient sont psoriasiques et c'est à 14 ans que débute sa dermatose. Vu en consultation le 27 janvier, il présentait des lésions très kératosiques au cuir chevelu, aux coudes et aux genoux. Cette poussée évoluait depuis 6 mois. La biopsie est réalisée le jour de la consultation.

Donc: psoriasis typique biopsé après 6 mois de poussée.

Observation N°12: DUD... Christian

Sujet présentant des lésions érythémato-squameuses depuis 1970, avec des poussées en 1976 et 1977. Sans antécédent familial, il est vu en mars 1979 pour des lésions du cuir chevelu, des coudes et de la face externe des jambes, présentes presque en permanence depuis sa dernière poussée. Lésions très polycycliques, squameuses, parfois prurigineuses.

Biopsé le 2 mars à la face externe de la jambe droite, il ne se traitait pas depuis plusieurs mois.

Donc: psoriasis biopsé après 2 ans de poussée.

Observation N°13: ILL... Pascal

Début à l'âge de 12 ans, avec un frère porteur d'un psoriasis. Vu en mars 1979, il présente une nouvelle poussée apparue depuis 7 mois. Lésions en placard aux coudes et en positions rétro auriculaires.

Biopsie le 23 mars au coude gauche.

Donc: psoriasis typique biopsé après 7 mois de poussée.

Observation N°14: BON... Sergio

Vu en février 1979 pour la première poussée d'une dermatose érythémato-squameuse, non prurigineuse, remontant à 6 mois (date de son engagement à la légion étrangère). Lésions arrondies, à limites nettes, squameuses, localisées au front, au cuir chevelu et aux membres supérieurs avec une prédominance aux genoux.

Biopsie au niveau du genou gauche.

Donc: psoriasis biopsé après une poussée de 6 mois.

Observation N°15: DOA... Didier

Vu en consultation en avril 1979, ce jeune homme de 20 ans présentait une dermatose érythémato-squameuse évoluant depuis 3 semaines. Eléments de petites tailles, lenticulaires, squameux. D'abord localisés aux coudes, à la face dorsale des mains et aux genoux, ils se sont étendus à l'ensemble du tégument, présentant un aspect de psoriasis guttata.

Biopsie réalisée au niveau du creux épigastrique.

Donc: psoriasis guttata biopsé après 6 mois d'évolution.

ANNEXE II

COMPTES RENDUS ANATOMO-PATHOLOGIQUES DES BIOPSIES DE PSORIASISCAS 1: N° 78 1024

L'épiderme est épaissi par une hyperacanthose associée à une papillomatose. Les crêtes épidermiques forment un élargissement basal en massue. Les papilles dermiques sont oedémateuses et infiltrées d'éléments inflammatoires mononucléés.

Au sommet des papilles, l'épiderme est épaissi. Il présente une exosérose discrète et une endocytose à polynucléaires. En regard de ces lésions, la couche cornée est hyper-parakératosique avec une formation de petites bulles dont la lumière contient des polynucléaires neutrophiles et une sérosité éosinophile. Le derme superficiel présente une inflammation périvasculaire à lymphocytes.

CAS 2: N° 78 1079

L'épiderme est épaissi par une hyperacanthose et une papillomatose modérée. Il existe un infiltrat inflammatoire périvasculaire et papillaire formé de lymphocytes, d'histiocytes et de polynucléaires neutrophiles. En regard du sommet des papilles oedémateuses et inflammatoires, l'épiderme présente une parakératose.

Cette lésion, qui évoque celle d'un psoriasis, est cependant incomplète. Elle pourrait correspondre à une forme évoluée de la maladie.

CAS 3: N° 78 1121

L'épiderme est épaissi sur une zone limitée par une hyperkératose volontiers parakératosique, une hyperacanthose et une papillomatose. Les papilles sont très oedémateuses et déforment la basale en arcades caractéristiques. Les crêtes épidermiques, constituées de cellules du corps muqueux de Malpighi, sont déformées par un épaississement en battant de clôche de leurs extrémités dermiques.

Il existe enfin une exosérose avec exocytose de cellules inflammatoires au sommet des papilles et des aspects d'amincissement de l'épiderme à ce niveau. Ce processus détermine la constitution de vésicules enrichies de polynucléaires neutrophiles dans la parakératose; aspect d'abcès de Sabouraud.

CAS 4: N° 78 1168

L'épiderme est épaissi par une hyperkératose ortho et parakératosique et par une hyperacanthose prédominant au niveau des crêtes épidermiques qui sont globalement déformées en massue. Les papilles dermiques sont de ce fait allongées et l'épiderme situé à leur sommet est normal ou aminci. Ces papilles sont parfois oedémateuses et infiltrées de lymphocytes et d'histiocytes que l'on retrouve autour des vaisseaux superficiels. Psoriasis agé.

CAS 5: N° 78 1257

L'épiderme est discrètement épaissi par une hyperkératose avec des foyers de parakératose et par une hyperplasie acanthosique à peine marquée des crêtes

épidermiques. Les papilles dermiques sont oedémateuses et peuplées de cellules inflammatoires lymphohistiocytaires. Il existe enfin une vésicule formée par l'exosérose et l'exocytose à point de départ dermique, mais elle n'est pas située au sommet d'une papille. Elle contient, à coté des éléments mononucléés, quelques polynucléaires neutrophiles.
Lésions compatibles avec le diagnostic de psoriasis.

CAS 6: N° 78 1258

L' épiderme est épaissi par une hyperkératose parakératosique et par une hyperacanthose modérée, avec allongement discret des crêtes épidermiques. En regard de ces lésions épidermiques, le derme présente un infiltrat inflammatoire lymphohistiocytaire, périvasculaire et papillaire et un oedème prédominant au niveau des papilles dermiques.
Lésions compatibles avec un psoriasis.

CAS 7: N° 78 1000

Prélèvement très abimé au cours de la préparation. L'épithélium superficiel présente une hyperacanthose avec déformation nette des crêtes épidermiques en battant de clôche. Les papilles contiennent un infiltrat inflammatoire monocyttaire et les couches superficielles de l'épiderme présentent en regard une parakératose avec quelques cellules inflammatoires.
Aspect de psoriasis.

CAS 8: N° 79 71

Hyperkératose parakératosique englobant des micro-abcès de Munro-Sabouraud. Hyperacanthose et papillomatose du corps muqueux de Malpighi. Infiltrat dermique superficiel lymphohistiocytaire. Oedème des papilles dermiques.
Psoriasis.

CAS 9: N° 79 136

L'épiderme est épaissi par une hyperkératose parakératosique. Les papilles sont oedémateuses et déforment la basale. Les crêtes épidermiques sont déformées par un épaississement en battant de clôche. Aspects d'abcès de Sabouraud.
Psoriasis.

CAS 10: N° 79 237

L'épiderme est épaissi par une hyperkératose ortho et parakératosique et par une hyperacanthose des crêtes dermiques. Ces dernières prennent un profil digitiforme allongé avec un renflement de l'extrémité. Les papilles dermiques sont étroites et leur sommet vient à proximité des cellules superficielles. Elles sont oedémateuses et infiltrées de lymphocytes. Il existe une discrète exocytose et exosérose, et un infiltrat inflammatoire lymphohistiocytaire péri-vasculaire dermique superficiel.
Lésions évocatrices d'un psoriasis évolué.

CAS 11: N° 79 239

Epaississement de l'épiderme par hyperkératose et hyperplasie des crêtes épidermiques qui sont allongées et parfois renflées à leur extrémité. Les

papilles dermiques sont oedémateuses et leurs sommet en forme d'arcade est oedémateux. Elles sont peuplées de lymphocytes, on note plusieurs zones d'exocytose et d'exosérose en regard desquelles existe une parakératose. Le derme superficiel est infiltré de lymphocytes et d'histiocytes périvasculaires essentiellement.

Aspect très en faveur d'un psoriasis.

CAS 12: N° 79 256

Epiderme épaissi par une hyperkératose ortho et parakératosique et par une hyperacanthose des crêtes dermiques. Elles sont infiltrées de lymphocytes et oedémateuses. On note la présence d'une exocytose et d'une exosérose. Psoriasis probable.

CAS 13: N°79 332

L'épiderme est épaissi par une hyperkératose importante, orthokératosique, avec des zones très limitées de parakératose, et par une hyperacanthose marquée au niveau des crêtes qui sont déformées, épaissies et carrés. Les papilles dermiques sont étroites et infiltrées par des histiocytes de même que la périphérie des petits vaisseaux superficiels où l'on retrouve des lymphocytes. Psoriasis évolué.

CAS 14: N° 79 362

L'épiderme est épaissi par une hyperacanthose au niveau des crêtes épidermiques qui sont épaissies et deviennent massives ou digitiformes. Les papilles dermiques sont oedémateuses et infiltrées de lymphocytes et d'histiocytes. Il existe une discrète exocytose lymphocytaire au sommet des papilles, à travers l'épiderme aminci. On observe la formation d'une petite cavité anfractueuse dont la lumière contient quelques polynucléaires, de type abcès de Sabouraud. Au niveau de ces lésions existe une parakératose. Les couches cornées très superficielles contiennent des vésicules remplies de sérosité albumineuse d'origine hémorragique probable et qui constituent des artéfacts. Le derme superficiel est infiltré de lymphocytes surtout périvasculaires.

CAS 15: N° 79 394

L'épiderme est épaissi par une hyperkératose parakératosique des crêtes épidermiques. Ces dernières sont massives, digitiformes ou carrées. Les papilles dermiques sont élargies, oedémateuses et infiltrées de lymphocytes, ainsi que les espaces périvasculaires du derme superficiel. Il existe une très discrète exocytose lymphocytaire. Ce type de lésion et les déformations de l'épiderme évoquent un psoriasis évolué.

ANNEXE III

COMPTES RENDUS ANATOMO-PATHOLOGIQUES DES BIOPSIES DE NAEVI-NAEVO CELLULAIRES

IZA... Jean : -naevus fosse sus-épineuse gauche (N° 78 1190)

L'épiderme est refoulé par une prolifération cellulaire située dans le derme superficiel. Cette prolifération est constituée de cellules naeviques groupées en thèques dans la zone superficielle et disséminées dans la zone profonde. Elle respecte les annexes dermiques et ne présente aucune activité jonctionnelle avec les cellules basales de l'épiderme, dans le plan de coupe étudié. Il n'y a pas d'anomalies cytologiques ni de réaction inflammatoire dans le stroma environnant.

- naevus lombaire droit (N° 78 1191)

L'épiderme est soulevé et déformé par une prolifération cellulaire tumorale à limite inférieure nette, qui s'étend depuis la basale épidermique jusqu'au derme moyen. Elle est constituée de cellules naeviques très rarement pigmentées, groupées en thèques en superficie et qui présentent des aspects jonctionnels avec l'épiderme.

Les cellules tumorales, globuloïdes ou fusiformes, ne sont jamais nettement atypiques malgré un certain degré d'anionucléose. Il n'y a pas de réaction inflammatoire au contact des éléments tumoraux.

La densité cellulaire est faible et les cellules naeviques sont infiltrées de tissu conjonctif qui tend à les isoler les unes des autres. Ces cellules naeviques sont de petite taille.

Sur le plan de coupe examiné, l'incision passe à distance latéralement et en profondeur de la prolifération.

Naevus-naevo cellulaire à ACTIVITE JONCTIONNELLE cellulièrement bénin.

LUT... Jean-Pierre : - naevus ceinture dorsale (N° 78 1244)

Tuméfaction très exophytique formée de nombreuses digitations épidermiques dont les axes dermiques sont occupés par une prolifération tumorale de type naevique, qui s'étend depuis la basale épidermique jusqu'au derme moyen, où sa limite inférieure est rectiligne et nette.

Les cellules tumorales groupées en thèques, fréquemment pigmentées de mélanine en surface, sont parfois globuleuses avec un noyau volumineux. Elles prennent contact en plusieurs points avec la basale épidermique dans laquelle certaines thèques sont logées. Dans les zones plus profondes, les cellules sont plus régulières, fusiformes et moins denses ou moins cohérentes qu'en superficie.

Les annexes locales sont normales et respectées par la prolifération tumorale. Il n'y a pas de réaction inflammatoire dans le conjonctif environnant. Donc: prolifération importante en thèques avec densité cellulaire élevée. Les cellules tumorales sont volumineuses.

Naevus-naevo cellulaire DERMIQUE A ACTIVITE JONCTIONNELLE.

MAN... Raymond : - naevus sus-mamelonnaire gauche (N° 79 29)

L'épiderme est soulevé par une prolifération tumorale de cellules naeviques

qui occupe le derme superficiel à distance de la basale épidermique, et le derme moyen. Les cellules les plus superficielles sont volumineuses, jointives et forment des thèques. Les plus profondes sont séparées les unes des autres par un réseau de fibres collagènes. Les cellules tumorales ont des noyaux inégaux, mais elles sont dépourvues de véritable signes d'atypie. Parmi les plus superficielles, certaines contiennent des granulations de mélanine. Il n'y a pas de réaction inflammatoire en périphérie. L'épiderme sus-jacent est papillomateux.

Densité cellulaire moyenne.

L'incision, dans le plan de coupe étudié, est passée au large de la prolifération tumorale latéralement et en profondeur.

Naevus naevo-cellulaire DERMIQUE.

- naevus épaule droite (N° 79 155)

Prolifération tumorale située dans le derme superficiel, toujours à distance de la basale épidermique, constituée de cellules naeviques dépourvues de pigment. Ces cellules ne présentent pas d'anomalie cytonucléaire. Il n'y a pas de stroma réaction. La ligne d'incision, dans le plan de coupe étudié, passe très à distance des bords de la tumeur.

Naevus naevo-cellulaire DERMIQUE bénin.

- naevus fosse lombaire droite (N° 79 156)

Prolifération naevique dense, importante, refoulant l'épiderme qui forme des digitations. Les zones d'activités jonctionnelles sont très fréquentes mais il n'y a pas d'anomalies cytonucléaires ni de réaction inflammatoire du stroma. La ligne d'incision est difficile à interpréter sur les préparations.

Naevus naevo-cellulaire bénin avec ACTIVITE JONCTIONNELLE.

EEC... Jean-Luc : - naevus latéro cervical droit (N° 79 88)

L'épiderme est refoulé par une prolifération tumorale dermique très dense. Il forme des digitations qui lui donnent un aspect macroscopique papillomateux. La prolifération est située dans le derme superficiel; elle vient contre les cellules de la basale épidermique avec laquelle elle est parfois en continuité. Sa limite inférieure est nette. Elle est composée de cellules tumorales de type naevique, globuleuses en surface, à noyaux parfois irréguliers, nucléolés et à cytoplasme éosinophile. Ces cellules ne présentent aucun signe de malignité. Parmi les cellules les plus superficielles, certaines présentent une surcharge cytoplasmique en pigment mélanique.

Les annexes, rares sur ce tégument, sont respectées et il n'y a pas de stoma réaction inflammatoire. L'épiderme est hyperkératosique.

La densité des cellules naeviques est très élevée. Les cellules sont compactes et polygonales, rarement en thèques, occupant la totalité du derme superficiel.

Naevus naevo-cellulaire dermique bénin avec ACTIVITE JONCTIONNELLE.

- naevus juxta mamelonnaire droit (N° 79 87)

L'épiderme, refoulé par une prolifération dermique, devient papillaire avec une base rectiligne. La prolifération tumorale s'étend depuis le derme superficiel jusqu'au derme moyen où elle entoure les annexes pilaires. Au contact de l'épiderme, bien que très proche de la basale, elle en reste

constamment séparée par des fibres conjonctives, dans le plan de coupe étudié. Les cellules tumorales sont de type naevique, globuleuses, parfois pigmentées, groupées en thèques en superficie, étalées en plaques larges en profondeur. La densité cellulaire est toujours très importante mais il n'y a pas d'aspect cytologique atypique ni de mitose. La limite inférieure de la prolifération est nette. Il n'y a pas de stroma réaction inflammatoire.

Donc, densité cellulaire élevée mais étendue limitée. Cellules tumorales volumineuses à gros noyaux polymorphes nucléolés.

Naevus naevo-cellulaire DERMIQUE bénin.

- naevus axillaire gauche (N° 79 100)

L'épiderme est soulevé par une prolifération tumorale dermique superficielle qui détermine des aspects papillaires de la peau. La prolifération s'étend de la basale épidermique, avec laquelle elle est parfois en contact direct et dans laquelle elle paraît même s'incruster en certains points, jusqu'au derme moyen où sa limite inférieure est effilochée.

Les cellules tumorales sont volumineuses et groupées en thèques en superficie. Il n'y a pas de stroma réaction inflammatoire au niveau du derme.

La densité cellulaire est assez élevée.

Naevus naevo-cellulaire bénin avec ACTIVITE JONCTIONNELLE.

DEG... Véronique : - naevus épaule droite (N° 297 79)

Il s'agit d'un naevus naevo-cellulaire de type composé avec une assez forte activité jonctionnelle, sans signe de malignité. La coupe est passée au travers de la lésion mais il s'agit probablement d'un artifice de technique.

ERB... Paola : - naevus du menton (N° 71 194)

Naevus naevo-cellulaire dermique bénin sans activité jonctionnelle.

- naevus inter scapulaire (N° 71 195)

Ostéo naevus de Nanta.

BAR... Brigitte : - naevus omoplate gauche (N° 71 394)

Naevus naevo-cellulaire papillomateux bénin.

- naevus lombaire droit (N° 71 395)

Naevus naevo-cellulaire dermique bénin.

MAC... Simone : - naevus sous claviculaire gauche (N° 79 291)

L'épiderme est papillomateux et dans le derme existe une prolifération tumorale de type naevique qui reste superficielle, à proximité des cellules basales épidermiques, mais toujours séparée d'elle par une couche de tissu conjonctif. Cette prolifération n'est pas très dense. Elle forme des thèques dans la zone superficielle. Dans la région profonde, les cellules deviennent fusiformes et tendent à s'isoler dans le tissu conjonctif.

Il n'y a pas d'anomalie cytonucléaire ni de stroma réaction inflammatoire.
Naevus naevo-cellulaire DERMIQUE.

CHE... Ahmed : - naevus dorsal

Naevus naevo-cellulaire de type composé avec une activité jonctionnelle modérée. Les éléments dermiques sont disposés en surface en thèques, et en profondeur en petits cordons retrouvés jusque dans le derme profond, à la limite inférieure du prélèvement.

Les éléments cellulaires sont réguliers et il n'a pas été vu de signe de malignité.

Naevus naevo-cellulaire avec ACTIVITE JONCTIONNELLE modérée.

PEC... Antoine : - naevus cuir chevelu (N°79 340)

L'épiderme est aminci et refoulé par une prolifération tumorale qui occupe en les élargissant les papilles dermiques et le derme superficiel. Cette prolifération est d'autant plus dense que l'on se rapproche de l'épiderme où elle forme des thèques juxtaposées qui sont toutefois séparées de la basale épidermique par un réseau de fibres de collagène. Les cellules théciales sont de type naevique et elles présentent de nombreuses atypies nucléaires. En effet, les noyaux sont volumineux, parfois irréguliers, ovoïdes, nucléolés, vacuolisés ou anormalement clairs avec une chromatine périphérique. Enfin, on observe plusieurs aspects de mitose sur le plan de coupe étudié. Au niveau des plans plus profonds, les cellules tumorales sont moins denses et les atypies disparaissent et on note une mitose normale. La pigmentation mélanique est très discrète. Les annexes dermiques sont respectées. Il n'existe pas de stroma réaction au contact de la prolifération.

Naevus naevo-cellulaire verruqueux sans activité jonctionnelle.

WAN... Jean-Luc : - naevus fosse iliaque gauche (N° 79 576)

L'épiderme est refoulé par une prolifération tumorale qui entraîne un allongement des crêtes épidermiques et détermine un aspect papillomateux. La prolifération est constituée par des thèques très denses de cellules naeviques, qui viennent jusqu'à proximité de la basale épidermique et dont les plus superficielles sont parfois discrètement pigmentées. Les cellules sont cytologiquement normales. Il n'y a pas de réaction inflammatoire du derme voisin. La limite d'exérèse passe au milieu de la prolifération (prélèvement pour activités enzymatiques?)

Naevus naevo-cellulaire papillomateux bénin.

- naevus flanc gauche (N° 79 580)

L'épiderme, soulevé par une prolifération tumorale dermique, est papillomateux et hyperkératosique. La prolifération de type naevique est épaisse et dense. Elle atteint le derme moyen, mais respecte les annexes. Les thèques qui la constituent sont étroitement mêlées à la basale épidermique. Plus profondément, elles sont isolées les unes des autres. Les cellules tumorales ne sont jamais monstrueuses ni mitotiques. Certaines contiennent du pigment mélanique. Il n'y a pas de stroma réaction. La ligne d'incision, dans le plan de coupe étudié, est passée très au large de la tumeur.

Naevus dermique papillomateux avec ACTIVITE JONCTIONNELLE.

-naevus fosse lombaire droite (N° 79 582)

Le derme moyen est le siège d'une prolifération tumorale de type naevique, agencée en thèques ou en travées de cellules dépourvues d'anomalie cytonucléaire. La plupart de ces thèques sont à distance de l'épiderme, les plus superficielles sont chargées de pigment mélanique. Il n'y a pas de stroma réaction.

Naevus naevo-cellulaire dermique bénin.

CHA... Jean-Paul : - naevus para dorsal gauche (N° 79 602)

L'épiderme est soulevé et aminci par une prolifération tumorale dermique superficielle, dont les éléments les plus profonds restent au dessus des annexes cutanées, et les éléments superficiels se mêlent fréquemment à la base épidermique. Cette prolifération est constituée de travées étroites et de thèques de cellules naeviques, parfois pigmentées de mélanine. Les cellules tumorales sont inégales entre elles mais elles ne sont jamais monstrueuses ni en mitoses. Il n'y a pas de stroma réaction dans le conjonctif voisin.

Naevus naevo-cellulaire dermique avec ACTIVITE JONCTIONNELLE importante.

ANNEXE IV

COMPTES RENDUS ANATOMO-PATHOLOGIQUES DES PIÈCES DE MELANOMES MALINS

BER... Patrick : Lésion nodulaire et exophytique de la cuisse droite
N° 922 79

Il s'agit d'une lésion arrondie, en relief sur le plan cutané, presque pédiculée et limitée latéralement par une invagination de l'épiderme. Il existe en surface une nécrose assez étendue de l'épiderme qui, lorsqu'il subsiste, est généralement aminci et largement pénétré par les thèques tumorales.

Le corps de la lésion est constitué par une prolifération cellulaire très dense, pratiquement sans stroma, disposée en thèques ou en nappes et constitué par des cellules de grande taille, assez régulières, arrondies avec un ou plusieurs gros noyaux fortement nucléolés. La lésion est très inflammatoire et hémorragique en surface et paraît dans l'ensemble peu pigmentée. Elle débute brusquement et ne s'accompagne en profondeur que d'une réaction cellulaire dans l'ensemble très modérée.

En somme, mélanome malin nodulaire déjà très évolué. Des recoupes seront pratiquées pour évaluer son épaisseur, car les zones profondes de la tumeur ont été éjectées par la coupe.

N° 922 79

Des recoupes ont été pratiquées, sur lesquelles la zone profonde de la tumeur manque toujours. Cependant, il semble bien que cette dernière descend jusqu'à la jonction dermo-épidermique. (niveau V)

N° 922 79

La coloration de la mélanine est assez fortement positive en périphérie de la lésion et il existe également quelques dépôts pigmentaires au sein même de la tumeur.

PRA... Albert : mélanome malin (N° 2545 77)

Fragment cutané comportant effectivement en surface une très volumineuse tumeur en relief sur le plan cutané, presque pédiculée, recouverte par un épiderme largement nécrosé et envahi par la prolifération tumorale.

Cette dernière, en nappe, descend généralement jusqu'au niveau du derme moyen de la peau avoisinante avec cependant quelques petits foyers au niveau du derme profond. Il s'agit d'éléments arrondis, assez réguliers, avec un noyau fortement nucléolé. Il existe de nombreuses zones de nécrose et la tumeur est plus ou moins parsemée par un infiltrat lymphocytaire qui apparaît particulièrement dense à la limite inférieure de la tumeur, où l'on observe également un certain nombre de macrophages chargés de pigments.

Par ailleurs, latéralement et jusqu'à la limite du prélèvement d'un côté, l'aspect histologique est celui d'une mélanose de Dubreuilh avec présence de thèques à la jonction dermo épidermique et dans le derme superficiel un infiltrat assez dense, associant des éléments inflammatoires mononucléés et des macrophages chargés de pigments.

En somme, mélanome malin déjà assez évolué dont le niveau est très difficile à préciser (IV ?) et qui paraîtrait développée sur une mélanose de Dubreuilh préexistante.

MIL... Jean : ulcération pigmentée du pied (N° 5188 78)

Fragment comportant un épiderme très épais et papillomateux, presque pseudo-épithéliomateux, ulcéré en surface, recouvert d'une couche sérohématique et comportant de volumineuses vésicules intramalpighiennes qui contiennent de la sérosité coagulée, des hématies et des cellules mélaniques.

Des dépôts pigmentaires sont retrouvés jusque dans la couche cornée qui est très épaisse et parakératosique. Il existe à l'intérieur de l'épiderme, à la jonction dermo épidermique et dans le derme sous-jacent (jusqu'au derme moyen), une prolifération cellulaire dense, en nappes, qui en surface est plutôt constituée d'éléments fusiformes, et en profondeur d'éléments arrondis de taille généralement réduite. Les noyaux sont relativement réguliers. Il existe dans le derme voisin de très nombreux éléments cellulaires de grande taille, chargés en granulations mélaniques et dont le noyau n'est pas visible, qui sont probablement aussi bien des cellules naeviques que des macrophages. On observe par ailleurs une assez importante réaction inflammatoire lymphocytaire.

Il s'agit sans aucun doute d'un mélanome malin, mais on ne possède semble-t-il qu'un fragment de la tumeur et il n'est pas possible d'évaluer valablement son type et son épaisseur (niveau IV).

BIBLIOGRAPHIE

- 1- ADACHI K., YAMASAWA S.: Quantitative histochemistry of the primate skin.I. Hexokinase. *J. Invest. Dermatol.*, 1966, 46, 473-476.
- 2- ADACHI K., YAMASAWA S.: Quantitative histochemistry of the primate skin.II. Fructoaldolase. *J. Invest. Dermatol.*, 1966, 46, 542-545.
- 3- ADACHI K., YAMASAWA S.: Quantitative histochemistry of the primate skin.IV. α -glycerophosphate dehydrogenase. *J. Invest. Dermatol.*, 1966, 47, 107-109.
- 4- ADACHI K.: Enzyme activities in mammalian pigment cells. In: *Advances in biology*. Pergamon Press, Oxford, vol. 8, 1967, p. 223-240.
- 5- ADACHI K., YAMASAWA S.: Quantitative histochemistry of the primate skin.X. *J. Invest. Dermatol.*, 1968, 50, 180-185.
- 6- ADACHI K., KONDO S., HIRAGA M., HU F., BELL M.: Energy metabolism of mouse melanoma. In: *Riley Pigmentation: its genesis and biological control*. Appleton-Century Croft, New York, 1972, p. 551-569.
- 7- AKAGI K., MURAI K., YAMANAKA M.: Purification and properties of alkaline ribonuclease from human serum. *Biochim. Biophys. Acta*, 1976, 442, 368-378.
- 8- ALTMAN F.P.: Selective increases in type I hydrogene from reduced nicotinamide adenine dinucleotide phosphate in liver from phenolbarbitone-treated rats. *Biochem. J.*, 1971, 125, 21-22.
- 9- ARDENNE P.M. von: Verstärkte lysosomale Zytolyse-Kettenreaktion durch zeitweilige Erhöhung des Lysosomengehaltes in krebszellen. *Naturwissenschaften*, 1970, 57, 360-361.
- 10- ARONSON J., HERPELMANN L.H., OKADA S.: Preliminary studies on the histochemical demonstration of deoxyribonuclease by adaptation of the Gomori acid phosphatase method. *J. Histochem. Cytochem.*, 1958, 6, 255-361.
- 11- ASO K., ORENBERG E.K., FARBER E.M.: Reduced epidermal cyclic AMP accumulation following prostaglandin stimulation: its possible role in the pathophysiology of psoriasis. *J. Invest. Dermatol.*, 1975, 65, 375-380.
- 12- ASP N.G., DAHLQUIST A.: Assay of 2-naphtyl- β -galactosidase activity. *Analyt. Biochem.*, 1971, 42, 275-280.
- 13- ASPEREN K.: A study of housefly esterases by means of a sensitive colorimetric method. *J. Insect. Physiol.*, 1962, 8, 401-416.
- 14- BARKER S.B., SUMMERSON W.H.: The colorimetric determination of lactic acid in biological material. *J. Biol. Chem.*, 1941, 138, 535.
- 15- BARRETT A.J.: Lysosomal enzymes. In: *Lysosomes: a laboratory handbook*. Ed. by J.J. Dingle, North-Holland Publishing Co., London and Amsterdam, 1972, p.46.
- 16- BARRON E.S.G., MEYER J., MILLER Z.B.: The metabolism of skin. Effect of vesicant agents. *J. Invest. Dermatol.*, 1948, 11, 97-118.
- 17- BARTHOLEYNS J., PEETERS-JORIS C., REYCHLER H., BAUDHUIN P.: Hepatic nucleases.I. Methods for the specific determination and characterization in rat liver. *Eur. J. Biochem.*, 1975, 57, 205-211.
- 18- BEHAL F.J., FOLDS J.D.: Arylamidase of *Neisseria Catarrhalis*. *Arch. Biochem. Biophys.*, 1967, 121, 364-371.

- 19- BELOFF A., PETERS R.A.: Observations upon thermal burns: the influence of moderate temperature upon proteinase of skin. *J. Physiol.*, 1945, 103, 461.
- 20- BERGMAYER H.U.: Methods of enzymatic analysis. Academic Press, Inc., New-York, 2nd english edition, 1974.
- 21- BERNSTEIN I.A., SWEET D.: Glycolytic activity in extracts of young rat skin. *Arch. Biochem.*, 1959, 80, 35.
- 22- BERSAQUES J. de: Les diestérases dans la peau de l'homme. *Arch. Belg. Dermatol. Syphiligr.*, 1968, 24, 321.
- 23- BERSAQUES J. de: Leucine aminopeptidase et naphtylamidases dans l'épiderme humain. I. Données biochimiques. *Enzymol. Biol. Clin.*, 1968, 9, 219-233.
- 24- BERSAQUES J. de: Leucine aminopeptidase et naphtylamidases dans la peau de l'homme. V. Dipeptides naphtylamidases. *Arch. Belg. Dermatol. Syphiligr.*, 1970, 26, 529-537.
- 25- BLACKWOOD C.E., ERLANGER B.F., MANDL I.: A new test for the quantitative determination of chymotrypsin, chymotrypsin-like enzymes and their inhibitors. *Anal. Biochem.*, 1965, 12, 128-136.
- 26- BORN W.: The symptom-free skin in psoriasis. In: Psoriasis. Proceedings of the International Symposium. Ed. by E.M. Faber and A.J. Cox. Stanford University Press, Standford, 1971, p.317.
- 27- BOSMANN H.B., BIEBER G.F., BROWN A.E., CASE K.R., GERSTEN D., KIEMERER T.W., LIONE A.: Biochemicals parameters correlated with tumour cell implantation. *Nature*, 1973, 246, 487-489.
- 28- BRANDES D., BERTINI F., SMITH E.: Role of lysosomes in cellular lytic processes. II. Cell death during holocrine secretion in sebaceous glands. *Exp. Molec. Path.*, 1965, 4, 245.
- 29- BRAUN-FALCO O.: Histochemische Darstellung der Bernsteinsäuredehydrogenase in der menschlichen Haut. *Dermatol. Wschr.*, 1954, 130, 1271-1276.
- 30- BRAUN-FALCO O., RATHJENS B.: Über die Bernstein säuredehydrogenase Aktivität der Haut bei Psoriasis. *Arch. Dermatol. u. Syphilis*, 1955, 199, 146.
- 31- BRAUN-FALCO O.: Über die Fähigkeit der menschlichen Haut zur Polysaccharid synthese. Ein Beitrag zur Histopochemie der Phosphorylase. *Arch. Klin. Exp. Derm.*, 1956, 102, 163.
- 32- BRAUN-FALCO O.: Zur histochemischen Darstellung von Glucose-6-phosphatase in normaler Haut. *Dermatol. Wochschr.*, 1956, 134, 1252-1257.
- 33- BRAUN-FALCO O.: Beitrag zur histochemischen Nachweis von Esterasen in normalen und psoriatischer Haut. *Arch. Klin. u. exptl. Dermatol.*, 1956, 202, 153.
- 34- BRAUN-FALCO O.: Das wesen des parakeratotischen Verhornungsmodus aus histochemischer Sicht. *Klin. Wochschr.*, 1957, 35, 1182.
- 35- BRAUN-FALCO O.: The histochemistry of psoriasis. *Annals N.Y. Acad. Sc.*, 1958, 73, 936-976.
- 36- BRAUN-FALCO O.: Histochemie der Haut. In: Dermatologie und Venerologie. Ed. H.A. Gottron and W. Schonfeld, Vol. I, Part 1, Thieme, Stuggart, 1961.
- 37- BRAUN-FALCO O., PETZOLDT D.: Sur l'histochemie des cellules mélaniques. (Journées nationales de Besançon, 3-5 juin 1966). *Bull. Soc. Franç. Derm. Syph.*, 1966, 73, 609-623.
- 38- BRAUN-FALCO O., RUPEC M.: Die Verteilung der sauren Phosphatase bei normaler und psoriatischer Verhornung. Eine elektronenmikroskopisch. *Cytochem. Un. Dermatol.*, 1967, 134, 225.

- 39- BRAUN-FALCO O., BURG G.: Zur Enzym-Histochemie des malignen Melanoms. Untersuchungen an Primärtumoren und Metastasen. *Arch. Derm. Forsch.*, 1973, 246, 303-316.
- 40- BRETON B., BONNOT G., NARDON P., LAVIOLETTE P.: Les phosphatases alcalines du testicule de *Lebistes reticulatus*: mise au point d'une microméthode de détermination quantitative. *C. R. Acad. Sci. Paris*, 1967, 265, 161-164, Série D.
- 41- BRETON B., MENEZO Y., BILLARD R.: Mise en évidence de quelques enzymes dans le sperme de la Carpe (*Cyprinus Carpio* L.) et de la Truite (*Salmo gairdnerii* Richardson) et dans le liquide coelomique de la Truite. *C. R. Acad. Sci. Paris*, 1974, 278, 1285-1288, Série D.
- 42- BRIGHTWELL R., TAPPEL A.L.: Subcellular distributions and properties of rat liver phosphodiesterases. *Arch. Biochem. Biophys.*, 1968, 124, 325.
- 43- BUISSIÈRE J., FOURCARD A., COLOBERT L.: Usage de substrats synthétiques pour l'étude de l'équipement enzymatique de microorganismes. *C. R. Acad. Sci. Paris*, 1967, 264, 415-417, Série D.
- 44- BUISSIÈRE J., NARDON P.: Microméthode d'identification des Bactéries. I. Intérêt de la quantification des caractères biochimiques. *Ann. Inst. Pasteur*, 1968, 115, 218-231.
- 45- BUISSIÈRE J., NARDON P., DESGRANGES C., DIDIER-FICHET M.L., de THE G.: Différences d'activités enzymatiques entre lignées lymphoblastoïdes d'origines diverses: cancer du rhinopharynx (NPC), lymphôme de BURKITT (BL), mononucléose infectieuse et donneurs normaux. *C. R. Acad. Sci. Paris*, 1973, 277, 1417-1420, Série D.
- 46- BURSTONE M.S.: Histochemical demonstration of acid phosphatase with naphtol AS-phosphates. *J. Natl. Cancer Inst.*, 1958, 21, 523-539.
- 47- BUTTERWORTH J., GUY G.J.: α -L-Fucosidase of human skin fibroblasts and amniotic fluid cells in tissue culture. *Clin. Genet.*, 1977, 12, 297-302.
- 48- CAHN R.D., KAPLAN N.O., LEIRNE L., ZURLLING E.: Nature and development of lactic dehydrogenases. *Science*, 1962, 136, 929-969.
- 49- CALLAHAN J.W.: Alpha-N-acetylgalactosaminidase: isolation, properties and distribution of the human enzyme. *Biochem. Med.*, 1973, 7, 424-431.
- 50- CAMPBELL D.M., MOSS D.W.: Spectrofluorimetric determinations of acid phosphatase activity. *Clin. Chim. Acta*, 1961, 6, 307.
- 51- CERIMELE D., TORSELLINI M., SERRI F.: Pattern of some enzyme activities during carcinogenesis in human melanoma. *Dermatology, Excerpta Medica*, Amsterdam. 1974, p.577-578.
- 52- CERIMELE D., TORSELLINI M., SERRI F.: Quantitative Histochemical Analysis of Metabolic Enzymes in Human Melanomas and in Premalignant Lesions. In: *Pigment Cell*. Karger, Basel, vol. 2, 1976, p.290-296.
- 53- CHALON M.: Intérêt d'une nouvelle technique de dosages enzymatiques dans le domaine gynécologique et obstétrical. Thèse Lyon 1979.
- 54- CHAMBERS D.A.: Molecular mediators of cell proliferation. *J. Invest. Dermatol.*, 1976, 67, 661-665.
- 55- CHAPMAN P.H.: Activity of Aryl hydroxylase in adult human skin. *Br. J. Clin. Pharmacol.*, 1977, 4, 393-398.
- 56- CHUNG S.I., FOLK J.E.: Transglutaminase from hair follicle of guinea pig. *Proc. Natl. Acad. Sci. USA*, 1972, 69, 303-307.

- 57- CLARK W.H. Jr., WATSON M.C., WATSON B.E.M.: Two kinds of clear cells in the human epidermis. *Am. J. Pathol.*, 1961, 39, 333.
- 58- CLAUSEN J., MELCHIOR J.C., PAERREGAARD P.: Enzymatic differentiation between different types of Tay-Sachs disease of similar clinical appearance. *Eur. Neurol.*, 1972, 7, 56.
- 59- COMAISH J.S.: Epidermal aldolase levels in psoriasis and normal skin. *Brit. J. Dermatol.*, 1963, 75, 337-341.
- 60- CONSTANTZAS N., KOUKOUREK J.: Glycoside des 4-methylumbelliferous. *Coll. Czech. Chem. Comms.*, 1959, 24, 1099-1103.
- 61- CORMANE R.H., KALSBECK G.L.: ATP-Hydrolyzing enzymes in normal human skin. *Dermatologica*, 1963, 127, 381-396.
- 62- COSKEY R.J.: Eruptive naevi. *Arch. Dermatol.*, 1975, 111, 1658.
- 63- COTTON D.W.K., MIER P.D.: The molecular basis of metabolic skin disorders. *Transactions of the St John's Hospital Society*, 1972, 58, 108.
- 64- COTTON D.W.K.: Biochemical variability in the skin. *Br. J. Dermatol.*, 1973, 88, 87-90.
- 65- COURTOT D.: Les activités protéolytiques du pancréas de Lapin au cours du développement embryonnaire et post-natal. Thèse Lyon, 1970.
- 66- CRUICKSHANK C.N.D., TROTTER M.D., COOPER J.R.: Studies on the carbohydrate metabolism of skin. *Biochem. J.*, 1957, 66, 285-289.
- 67- CRUICKSHANK C.N.D., HERSHEY F.B., LEWIS C.: Isocitric dehydrogenase activity of human epidermis. *J. Invest. Dermatol.*, 1958, 30, 33-37.
- 68- DACREMONT G., KINT J.A.: Gml-ganglioside accumulation and β -galactosidase deficiency in a case of Gml-gangliosidosis (Landing disease). *Clin. Chim. Acta*, 1968, 21, 421.
- 69- DAOUST R.: Localization of deoxyribonuclease in tissue sections. *Exp. Cell. Res.*, 1957, 12, 202-206.
- 70- DAOUST R., AMANO H.: The localization of ribonuclease activity in tissue sections. *J. Histochem. Cytochem.*, 1960, 8, 131-137.
- 71- DE YOUNG L.M., RICHARDS W.L., BONZELET W., TSAI L.L., BOUTWELL R.K.: Localization and significance of γ -glutamyltranspeptidase in normal and neoplastic mouse skin. *Cancer Res.*, 1978, 38, 3697-3701.
- 72- DREWA G., ZBYTNIIEWSKI Z., KANCLERZ A.: Activity of some lysosomal hydrolases in the homogenates of transplantable melanotic and amelanotic melanoma in golden hamster (*Mesocricetus auratus*, Waterhouse). *Arch. Geschwulst. Forsch.*, 1978, 48, 198-201.
- 73- DUFILL M., WRIGHT N., SHUSTER S.: The cell proliferation kinetics of psoriasis examined by three in vivo techniques. *Br. J. Dermatol.*, 1976, 94, 355-362.
- 74- EADY R.A.J., GILKES J.J.H., WILSON JONES E.: Eruptive naevi: report of two cases, with enzyme histochemical, light and electron microscopical findings. *Br. J. Dermatol.*, 1977, 97, 267-278.
- 75- EDWARDS E.A., DUNTLEY S.Q.: The pigments and color of living human skin. *Am. J. Anat.*, 1939, 65, 1-33.
- 76- EISEN A.Z., ARNDT K.S., CLARK W.H.: The ultrastructural localization of acid phosphatase in human epidermis. *J. Invest. Dermatol.*, 1964, 43, 319-325.
- 77- ELLIS R.E., GILLESPIE J.M., LINDLEY H.: Biochemical studies of the wool roots. *Nature*, 1948, 165, 545-548.

- 78- ELLIS R.E., MONTAGNA W.: Histology and cytochemistry of human skin.XV. Sites of phosphorylase and amylo-1-6-Glucosidase activity. *J. Histochem. Cytochem.*, 1958, 6, 201-207.
- 79- ELLIS R.E.: Enzymes of the epidermis. In: W. Montagna and W.C. Lobitz (eds), *The epidermis*, New York, Academic Press, 1964, p.135.
- 80- EPSTEIN W.L., MAIBACH H.I.: Cell renewal in human epidermis. *Arch. Dermatol.*, 1965, 92, 462.
- 81- FARBER E., LOUVIERE C.D.: Histochemical localization of specific oxydative enzymes.IV. Soluble oxydation-reductive dyes as aids in the histochemical localization of oxydative enzymes with tetrazolium salts. *J. Histochem. Cytochem.*, 1956, 4, 347-356.
- 82- FIALA S., FIALA E.S.: Activation by Chemical Carcinogens of γ -Glutamyl Trans-peptidase in Rat and Mouse Liver. *J. Natl. Cancer Inst.*, 1973, 51, 151-158.
- 83- FISHER L.B., WELLS G.C.: The mitotic rate and duration in lesions of psoriasis and ichthyosis. *Br. J. Dermatol.*, 1968, 80, 235-339.
- 84- FISHER I., GLICK D.: Localization of alkaline phosphatase in human skin normal and pathological. *Proc. Soc. Exper. Biol. Med.*, 1947, 66, 14.
- 85- FISHMAN W.H., GOLDMAN S.S., DE LELLIS R.: Dual localization of β -glucuronidase in endoplasmic reticulum and in lysosomes. *Nature*, 1967, 213, 457-460.
- 86- FLEISCHMAJER R., BLUMENKRANTZ N.: Fractionation of glycosaminoglycans from psoriatic skin. *J. Invest. Dermatol.*, 1970, 55, 274-277.
- 87- FLEISCHMAJER R., BURGOYNE A., PIAMPHONGSANT T.: Dermal glycosaminoglycans in psoriasis. *J. Invest. Dermatol.*, 1970, 54, 316-318.
- 88- FLESCH P., HODGSON C., ESODA E.C.J.: Water soluble organic components of psoriatic scales. *Arch. Derm. (Chicago)*, 1962, 85, 476.
- 89- FORMISANO V., MONTAGNA W.: Succinic dehydrogenase activity in the skin of guinea pig. *Anat. Rec.*, 1954, 120, 893-906.
- 90- FORSTER F.J.: Acid phosphatase from psoriatic scales. A biochemical study. *Arch. Dermatol. Forsch.*, 1974, 250, 229-235.
- 91- FORSTER F.J., KALLENBERG L., FERTIG U., LEONHARDI G.: Subcellular distribution and cytoplasmic kinetic properties of acid phosphatase of normal stratum corneum and psoriatic scales. *Dermatologica*, 1974, 149, 274-283.
- 92- FORSTER F.J.: Separation of deoxyribonuclease (DNases) of normal human stratum corneum and psoriatic scales by micro-disc electrophoresis. *Arch. Dermatol. Res.*, 1975, 253, 213-218.
- 93- FRAKI J.E.: Human skin proteases: separation and characterization of two alkaline proteases, one splitting trypsin and the other chymotrypsin substrates. *Arch. Dermatol. Res.*, 1975, 253, 261-276.
- 94- FREINCKEL R.: Metabolism of glucose-C14 by Human skin in vitro. *J. Invest. Dermatol.*, 1960, 34, 37-41.
- 95- FRIEDLAND J., SCHNECK L., SAIFER A., POUFAR M., VOLK B.W.: Identification of Tay-Sachs disease Carriers by acrylamide gel electrophoresis. *Clin. Chim. Acta*, 1970, 28, 397-402.
- 96- FRUTON J.S.: On the proteolytic enzymes of animal tissues.V. Peptidases of skin, lung and serum. *J. Biol. Chem.*, 1946, 166, 721.
- 97- FUKUI K., HALPRIN K.M.: Enzymes of the uronic acid pathway in the human epidermis. *J. Invest. Dermatol.*, 1970, 55, 179-183.

- 98- FUKUYAMA K., EPSTEIN W.L.: Epidermal keratinization: localization of isotopically labelled amino acids. *J. Invest. Dermatol.*, 1966, 47, 551-555.
- 99- FUKUYAMA K., EPSTEIN W.L.: Inhibition of protein synthesis in granular cells by Actinomycin D and Puromycin. *J. Invest. Dermatol.*, 1969, 52, 379-383.
- 100- GANS O.: Über die Gewebsatmung der gesunden und kranken Haut. *Dent. Med. Wochschr.*, 1923, 1, 16.
- 101- GANS O., VON GLASENAPP I.: Contributi al problema della psoriasi. Respirazione cutanea e glicolisi a livello delle chiazze di psoriasi. *Dermatologia (Naples)*, 1951, 2, 1-3.
- 102- GANS O.: Some observations on the pathogenesis of psoriasis. *Arch. Dermatol. and Syphilol.*, 1952, 66, 598-602.
- 103- GERICH J.E.: Hunter's syndrome: Beta-galactosidase deficiency in skin. *New Engl. J. Med.*, 1969, 280, 799-805.
- 104- GIBBS G.E., REIMER K., KOLLMORGEN R.L., YOUNG P.G.: Quantitative microdetermination of enzymes in sweat gland. I. Alkaline phosphatase, acid phosphatase, adenosine triphosphatase, cholinesterases, and carbonic anhydrase in cystic fibrosis patients and controls. *Amer. J. Dis. Children*, 1963, 105, 249.
- 105- GIBBS G.E., GRIFFIN G.D.: Beta glucuronidase activity in skin components of children with cystic fibrosis. *Nature*, 1970, 167, 993-994.
- 106- GLENNER G.G., COHEN L.A.: Histochemical demonstration of a species specific trypsin-like enzyme in mast cells. *Nature*, 1960, 185, 846-847.
- 107- GOERZ G.: Psoriasis: a general disease? Can psoriasis be explained biochemically? *Hantarzt*, 1977, 28, 173-177.
- 108- GOLDBERG M.F., COTLIER E., FICHENSCHER L.G., KENYON K., ENAT R., BOROWSKY S.A.: Macular cherry-red spot, corneal clouding, and β -galactosidase deficiency. *Arch. Intern. Med.*, 1971, 128, 387-398.
- 109- GOLDFISCHER S., ESSNER E., NOVIKOFF A.B.: The localization of phosphatases activities at the level of ultrastructure. *J. Histochem. Cytochem.*, 1964, 12, 72-95.
- 110- GOLDSMITH L.A., BADEN H.P., ROTH S.I., COLMAN R., LEE L., FLEMING B.: Vertebral epidermal transamidases. *Biochim. Biophys. Acta*, 1974, 351, 113-125.
- 111- GOLDSMITH L.A., MARTIN C.M.: Human epidermal transamidase. *J. Invest. Dermatol.* 1975, 64, 316-321.
- 112- GOMORI G.: Microscopic Histochemistry: Principles and practice. Univ. of Chicago Press, Chicago, Illinois, 1952.
- 113- GOODWIN P., HAMILTON S., FRY L.: The cell cycle in psoriasis. *Br. J. Dermatol.*, 1974, 90, 517-524.
- 114- GRENIER S., DELOBEL B., BONNOT G., LAVIOLETTE P.: Persistance des activités enzymatiques du corps adipeux de *Galleria mellonella* L. (Lepidoptera) en milieux définis. *C. R. Acad. Sci. Paris*, 1974, 278, 2545-2548, Série D.
- 115- GRIESEMER R.D., GOULD B.S.: A method for the study of the intermediary carbohydrate metabolism of epidermis. *J. Invest. Dermatol.*, 1954, 22, 299-314.
- 116- GUBLER A., HOFFMANN K.: Beitrag zur problematik der zusammenhänge zwischen der Psoriasis und verschiedenen enzymaktivitäten. *Dermatologica*, 1971, 142, 161-166.

- 117- GUILHOU J.J.: News concepts in the pathogenesis of psoriasis. *Br. J. Dermatol.*, 1978, 98, 585-592.
- 118- GULLINO P.M., LANZEROTTI R.H.: Mammary tumor regression.II. Autophagy of neoplastic cells. *J. Nat. Cancer Inst.*, 1972, 49, 1349-1356.
- 119- HALPRIN K.M., OHKAWARA A.: Carbohydrate metabolism in psoriasis: an enzymatic study. *J. Invest. Dermatol.*, 1966, 46, 51-69.
- 120- HALPRIN K.M., OHKAWARA A.: Glucose and glycogen metabolism in the human epidermis. *J. Invest. Dermatol.*, 1966, 46, \$\$\$.
- 121- HALPRIN K.M., OHKAWARA A.: Glucose utilization in the human epidermis. Its control by hexokinase. *J. Invest. Dermatol.*, 1965, 42, 53-58.
- 122- HALPRIN K.M., ADACHI K., YOSHIKAWA K., LEVIN V., MUI M.M., HSIA S.L.: Cyclic AMP and psoriasis. *J. Invest. Dermatol.*, 1975, 65, 170-178.
- 123- HAMMAR H.: β -Hydroxyacyl-CoA dehydrogenase and glucose-6-phosphate dehydrogenase in normal human skin and in some papulosquamous diseases of the skin. *Acta Derm. Venereol.*, 1971, 51, 93-97.
- 124- HAMMAR H.: NAD and NADP dependant isocitrate dehydrogenase and fumarate hydratase activities in normal human skin and in some maculosquamous diseases of the skin. *Arch. Dermatol. Forsch.*, 1973, 247, 295-308.
- 125- HAMMAR H.: Epidermal activity of NAD-dependent isocitrate dehydrogenase in psoriasis during treatment with dithranol. *J. Invest. Dermatol.*, 1975, 65, 315-319.
- 126- HARKONEN M., HOPUSU HAVU V.K., RAIJ K.: Cyclic adenosine monophosphate, adenyl cyclase and cyclic nucleotide phosphodiesterase in psoriatic epidermis. With a comment on urinary cAMP. *Acta Derm. Venereol.*, 1974, 54, 13-18.
- 127- HASHIMOTO K., TYE J.J., LEVER W.F.: Inhibition of the activities of glutamic, malic, and lactic dehydrogenases by psoriatic epidermis. *J. Invest. Dermatol.*, 1964, 42, 61-65.
- 128- HASHIMOTO K., LEVER W.F.: Histochemical demonstration of glucose-6-phosphate dehydrogenase in skin of human embryos. *J. Invest. Dermatol.*, 1966, 47, 421-424.
- 129- HASHIMOTO K., LEVER W.F.: Elektronenmikroskopische untersuchungen der Hautveränderungen bei Psoriasis. *Derm. Wschr.*, 1966, 152, 54.
- 130- HEENEN M., ACHTEN G., GALAND P.: Cycle cellulaire de l'épiderme normal, du psoriasis et de quelques tumeurs cutanées. *Ann. Dermatol. Venereol. (Paris)*, 1979, 106, 131-139.
- 131- HELL E., HODGSON C.: The uptake of tritiated thymidine by epidermal cells in normal and psoriatic subjects. DNA synthesis in psoriasis. *Br. J. Dermatol.*, 1966, 78, 262-269.
- 132- HERDENSTAM C.G.: On the in vitro metabolism of labelled glucose in normal and psoriatic skin slices. *Acta Derm. Venereol.*, 1962, 42, Suppl. 47.
- 133- HERSHEY F.B., MENDLE B.J.: Quantitative histochemistry of burned and normal skin. *Surgical Forum*, 1955, 5, 745-749.
- 134- HERSHEY F.B., CRUICKSHANK C.N.D., MULLINS L.I.: The quantitative reduction of 2,3,5-triphenyl tetrazolium chloride by skin in vitro. *J. Histochem. Cytochem.*, 1958, 6, 191-199.

- 135- HERSHEY F.B.: Hormone and enzyme mechanisms in sebaceous gland excretion. *J. Invest. Dermatol.*, 1959, 32, 1-6.
- 136- HERSHEY F.B., LEWIS C. Jr., MURPHY J., SCHIFF T.: Quantitative histochemistry of human skin. *J. Histochem. Cytochem.*, 1960, 8, 41-49.
- 137- HERSHEY F.B.: Quantitative histochemistry of skin. In: W. Montagna and W.C. Lobitz (eds), *The Epidermis*, New York, Academic Press, 1964, p.145.
- 138- HIBBS R.G., CLARK W.H.: Electron microscope studies of the human epidermis. *J. Biophys. Biochem. Cytol.*, 1959, 6, 78.
- 139- HOLLA S.W.J., HOLLMAN E.P.M.J., MIER P.D., VAN DEN STAAK W.J.B.M., URSELMANN E., WARNDORFF J.A.: Adenosine 3',5'-cyclic monophosphate phosphodiesterase in skin .II. Levels in atopic dermatitis. *Br. J. Dermatol.*, 1972, 58, 108.
- 140- HOLZMANN H.: Biochemische Erythrocyten Befunde bei der Psoriasis Vulgaris. *Arch. Klin. Exp. Derm.*, 1966, 225, 231-258.
- 141- HOPUSU-HAVU V.K., JANSEN C.T.: Proteolytic enzymes in the skin.I. A critical review of the literature. *Acta Derm. Venereol.*, 1969, 49, 458.
- 142- HORSTMANN E.: Die Haut. In: *Handbuch der Mikroskopischen Anatomie des Menschen*. W. von Möllendorff, ed., 1957, vol. 3, 1-276, Springer, Berlin.
- 143- HSIA S.L., WRIGHT R., MANDY S.H., HALPRIN K.M.: Adenyl cyclase in normal and psoriatic skin. *J. Invest. Dermatol.*, 1972, 59, 109-113.
- 144- HSIA S.L., WRIGHT R., HALPRIN K.M.: Adenyl cyclase in human skin and its abnormalities in psoriasis. In: *The role of Cyclic Nucleotides in Carcinogenesis*. Academic Press, New York, 1973, p.303.
- 145- HULTBERG B., OCKERMAN P.A.: Beta-glucosidase activities in Human Tissues. Findings in Gaucher's disease. *Clin. Chim. Acta*, 1970, 28, 169-174.
- 146- IGOSHIN IuM : Histochemical study of non specific esterases, lipase and cholinesterase in normal human skin. *Vestn. Dermatol. Venerol.*, 1976, 12, 13-17.
- 147- IGOSHIN IuM : Pathogenesis and treatment of psoriasis. *Vestn. Dermatol. Venerol.*, 1977, 6, 13-15.
- 148- IIZUKA H.: Cyclic nucleotide-phosphodiesterase in the uninvolved and involved skin of psoriasis. *J. Invest. Dermatol.*, 1978, 70, 246-249.
- 149- IM M.J.C., YAMASAWA S., ADACHI K.: Quantitative histochemistry of the primate skin.III. Glyceraldehyde-3-phosphate dehydrogenase. *J. Invest. Dermatol.*, 1966, 47, 35-38.
- 150- IM M.J.C., ADACHI K.: Quantitative histochemistry of the primate skin.VI. Lactate dehydrogenase. *J. Invest. Dermatol.*, 1966, 47, 286-288.
- 151- IM M.J.C., ADACHI K.: Quantitative histochemistry of the primate skin.V. Glucose-6-phosphate dehydrogenase and 6-phosphogluconate dehydrogenase. *J. Invest. Dermatol.*, 1966, 47, 121-124.
- 152- IM M.J.C., HOOPES J.E.: Alpha-Naphtyl acid phosphatase activity in normal human skin and keloids. *J. Invest. Dermatol.*, 1971, 57, 184-189.
- 153- IVERSON O.H.: Chalone on the skin. In: *Homeostatic Regulators*, Churchill, London, 1969, p.29.
- 154- JARRETT A., SPEARMAN R.I.C., HARDY J.A.: The histochemistry of keratinization. *Br. J. Dermatol.*, 1959, 71, 277-303.

- 155- JARRETT A.: The histochemistry of keratinization. In: Progress in the Biological Sciences in relation to Dermatology. Camb. Univ. Press, 1960, p. 135.
- 156- JARRETT A.: Histochemistry of keratinization. *Zool. Soc. London*, Symp. N°12, Academic Press, London, 1964.
- 157- JARRETT A., RILEY P.A.: Esterase activity in dendritic cells. *Br. J. Dermatol.*, 1963, 75, 79-81.
- 158- JARRETT A., SPEARMAN R.I.C.: Histochemistry of the skin: Psoriasis. English Universities Press, London, 1964.
- 159- JARRETT A., SPEARMAN R.I.C., RILEY P.A., CANE A.K.: The distribution of epidermal phospholipids and their relation to the phosphatase alkaline activity of the granular layer. *J. Invest. Dermatol.*, 1965, 44, 311-319.
- 160- JARRETT A., SPEARMAN R.I.C.: Keratinization. *Derm. Digest.*, 1967, 6, 43.
- 161- JARRETT A.: Acid nucleases in human skin. *J. Invest. Dermatol.*, 1967, 49, 443-448.
- 162- JARRETT A., HARDY J.: Acid nucleases and other hydrolases in human skin with special reference to elastic tissue. *Histochem. J.*, 1968, 1, 18-25.
- 163- JARRETT A.: Les enzymes de la peau. *Arch. Biochim. Cosmet.*, 1969, 12, 11-22.
- 164- JARRETT A., PLEASE N.W.: A quantitative histochemical technique for the estimation of azo-dye coupling reactions. *Histochem. J.*, 1970, 2, 297.
- 165- JARRETT A.: The pentose phosphate pathway in human and animal skin. *Br. J. Dermatol.*, 1971, 84, 545-553.
- 166- JARRETT A.: The physiology and pathophysiology of the skin. In: Epidermis. Academic Press, London and New York, Vol. I, 1973.
- 167- JARRETT A.: The uninvolved psoriatic epidermis. *Br. J. Dermatol.*, 1973, 89, 607-612.
- 168- JONES W.A., HELWIG E.B., HARMAN L.E.: Oxidative enzyme activity in the skin of patients with psoriasis. *J. Invest. Dermatol.*, 1965, 44, 189-195.
- 169- JOHNSON B.E., DANIELS F.: Lysosome and the reactions of skin to ultraviolet radiation. *J. Invest. Dermatol.*, 1969, 53, 85-89.
- 170- KALENGAYI M.M.R., RONCHI G., DESMET V.J.: Histochemistry of gamma-Glutamyl Transpeptidase in Rat Liver during Aflatoxin B1-induced Carcinogenesis. *J. Natl. Cancer Inst.*, 1975, 55, 579-588.
- 171- KAMPSCHMIDT R.F., WELLS D.: Acid hydrolase activity during the growth, necrosis, and regression of the Jensen Sarcoma. *Cancer Res.*, 1968, 28, 1938-1943.
- 172- KING L.E., FLORENDO N.T., SOLOMON S.S., HASHIMOTO K.: Cyclic 3',5'-nucleotide phosphodiesterase.I. Histochemical localization in rat skin. *J. Invest. Dermatol.*, 1974, 62, 485-492.
- 173- KIPPING D.: Beitrag zur Kenntnis der serumenzyme bei der Psoriasis. *Zschr. Haut Geschl. Krkh.*, 1967, 42, 759-764.
- 174- KOBAYAKAWA S.: Histochemical and biochemical study on the distribution of amylophosphorylase in human embryos. *Igaku Kenkyu (Acta Medica)*, 1957, 27, 1659- 1688.
- 175- KOPF A.W.: The distribution of alkaline phosphatase in normal and pathologic human skin. *A.M.A. Arch. Dermatol.*, 1957, 75, 1-31.

- 176- LACHAPELLE J.M.: Etude radio-autographique de l'incorporation in vitro de thymidine tritiée dans la peau humaine normale et dans certaines proliférations épidermiques. *Pathologica Europea S.*, 1970, Suppl.1, 1-216.
- 177- LAURENT R.: Evaluation des activités de quelques enzymes érythrocytaires (G6PDH, 6PGDH, PHI, Aldolase et LDH) dans le psoriasis. *Ann. Derm. Syph.*, 1971, 98, 311-315.
- 178- LAURENT R., BECHTEL P., AGACHE P.: Activités enzymatiques sériques dans le psoriasis. *Ann. Derm. Syph.*, 1975, 102, 411-414.
- 179- LAVIOLETTE P.: Sur une microméthode d'identification des activités enzymatiques. Revue de quelques résultats dans divers domaines d'application. *Groupe Lyonnais de Recherche en Biologie Cellulaire. Rapport annuel.* 1973, 57-67.
- 180- LEIBSOHN E.B.A., ULLRICK W.C., TYE M.J.: Respiration of human skin. *J. Invest. Dermatol.*, 1958, 30, 1-8.
- 181- LEVY G.A., Mc ALLAN A.: Mammalian fucosidase.2. α L-fucosidase. *Biochem. J.*, 1961, 80, 435-439.
- 182- LISS M., LEVER W.F.: Purification and characterization of ribonuclease from psoriatic scales. *J. Invest. Dermatol.*, 1962, 39, 529-534.
- 183- LOWRY O.H.: The quantitative histochemistry of the brain.I. Histological sampling. *J. Histochem. Cytochem.*, 1953, 1, 420-428.
- 184- LOWRY O.H., ROBERTS N.R., WU M.L., HIXON W.S., CRAWFORD E.J.: The quantitative histochemistry of the brain.II. Enzyme measurements. *J. Biol. Chem.*, 1953, 207, 19.
- 185- LOWRY O.H., ROBERTS N.R., KAPPAN J.I.: The fluorometric measurement of pyridine nucleotides. *J. Biol. Chem.*, 1957, 224, 1047-1064.
- 186- LOWRY O.H., PASSONNEAU J.V.: The relationships between substrates and enzymes of glycolysis in brain. *J. Biol. Chem.*, 1964, 239, 31.
- 187- LOWTHER D.A., ROGERS H.J.: The role of glutamine in the biosynthesis of hyaluronate by streptococcal suspensions. *Biochem. J.*, 1956, 62, 304-315.
- 188- MADDEN J.L.: Histological studies on uninvolved skin of patients with psoriasis. *Archs. Derm. Syph.*, 1941, 44, 655.
- 189- MAHADEVAN S., TAPPEL A.L.: Arylamidase of rat liver and kidney. *J. Biol. Chem.*, 1967, 242, 2369- 2374.
- 190- MAHADEVAN S., TAPPEL A.L.: Hydrolysis of higher fatty acid esters of p-nitrophenol by rat liver and kidney lysosomes. *Arch. Biochem. Biophys.*, 1968, 126, 945.
- 191- MAHADEVAN S., TAPPEL A.L.: Lysosomal lipase of rat liver and kidney. *J. Biol. Chem.*, 1968, 243, 2849.
- 192- MAHRLE G., ORFANOS C.E.: β -adrenerge Stimulation membrangebundener Adenylcyclase in normaler Epidermis und mangelnde Stimulierbarkeit bei Psoriasis. *Arch. Derm. Forsch.*, 1975, 253, 195-202.
- 193- MAHRLE G., ORFANOS C.E.: Localization and activity of tissue bound cyclic nucleotide phosphodiesterase in normal and lack of changes in psoriatic human skin. *Br. J. Dermatol.*, 1976, 95, 591-598.
- 194- MALATY H.A., BOURNE G.H.: Histochemistry of Succinic dehydrogenase. *Nature*, 1953, 171, 295-297.

- 195- MARKS R., FUKUI K., HALPRIN K.: The application of an in vitro technique to the study of epidermal replication and metabolism. *Br. J. Dermatol.*, 1971, 84, 453-460.
- 196- MARKS R.: Epidermal activity in the involved and uninvolved skin of patient with psoriasis. *Br. J. Dermatol.*, 1978, 98, 399-404.
- 197- MELBYE S.W., FREEDBERG I.M.: Epidermal nucleases: Purification and characterization of ribonuclease from mammalian epidermis. *Biochim. Biophys. Acta*, 1975, 384, 466-476.
- 198- MELBYE S.W., FREEDBERG I.M.: Epidermal nucleases.II. The multiplicity of ribonucleases in guinea-pig epidermis. *J. Invest. Dermatol.*, 1977, 68, 285-292.
- 199- MELBYE S.W., BRANT B.A., FREEDBERG I.M.: Epidermal nucleases.III. The ribonucleases of human epidermis. *Br. J. Dermatol.*, 1977, 97, 355-364.
- 200- MENEZO Y.: Contribution à l'étude des sécrétions tubaires chez la Lapine. Pression osmotique, zymogramme, protéines, acides aminés libres. Thèse de spécialité (Biologie animale appliquée), Lyon, 1971.
- 201- MENEZO Y., LAVIOLETTE P.: Les constituants aminés des sécrétions tubaires chez la Lapine. *Ann. Biol. Anim. Biochim. Biophys.*, 1972, 15, 1-8.
- 202- MENEZO Y.: Comparaison des diagrammes électrophorétiques tubaires et sériques chez la brebis et la lapine. Etude comparée des zymogrammes des sécrétions du tractus génital femelle, du sérum et du plasma séminal. Colloque C.N.R.S. sur les Polymorphismes biochimiques chez les Mammifères, Orléans, 1973.
- 203- MENEZO Y., FLECHON J.E.: Utilisation d'une microtechnique pour la détermination des activités enzymatiques des spermatozoïdes et du plasma séminal chez le lapin et le taureau. *C. R. Acad. Sci. Paris*, 1973, 277, 1037-1040, Série D.
- 204- MENEZO Y., TESTARD J.: Etude du sérum sanguin et du liquide folliculaire préovulatoire chez la vache. *Ann. Biol. Anim. Biochim. Biophys.*, 1975, 15, 1-8.
- 205- MEZEI C., MEZEI M., HAWKINS A.: 2',3'-cyclic AMP 3'-phosphohydrolase activity during Wallerian degeneration. *J. Neurochem.*, 1974, 22, 457-458.
- 206- MEZEI M., HOWELL D.R.S.: The 2',3'-cyclic AMP 3'-phosphohydrolase in normal and psoriatic epidermis. *Br. J. Dermatol.*, 1979, 100, 157-160.
- 207- MIER P.D., URSELMANN E.: Adenosine 3',5'-cyclic monophosphate phosphodiesterase in skin.I. Measurement and properties. *Br. J. Dermatol.*, 1972, 86, 141-146.
- 208- MIER P.D., VAN DEN HURK J.J.M.A.: A direct biochemical assay of the lipase activity of the epidermis. *Dermatologica*, 1974, 149, 284-288.
- 209- MIER P.D., VAN DEN HURK J.J.M.A.: Lysosomal hydrolases of the epidermis.3. Peptide hydrolases. *Br. J. Dermatol.*, 1975, 93, 509-517.
- 210- MIER P.D., VAN DEN HURK J.J.M.A.: Lysosomal hydrolases of the epidermis.2. Ester hydrolases. *Br. J. Dermatol.*, 1975, 92, 391-398.
- 211- MIER P.D., VAN DEN HURK J.J.M.A.: Lysosomal hydrolases of the epidermis.1. Glycosidases.
- 212- MIER P.D., VAN DEN HURK J.J.M.A.: Lysosomal hydrolases of the epidermis.6. Changes in diseases. *Br. J. Dermatol.*, 1976, 95, 271-274.

- 213- MIER P.D., VAN DEN HURK J.J.M.A.: Acid hydrolases in psoriatic epidermis. *Br. J. Dermatol.*, 1976, 94, 219-220.
- 214- MISHIMA Y., ITO R.: Electron microscopy of micro-focal necrosis in malignant melanomas. *Cancer*, 1969, 24, 185-193.
- 215- MONGET D.: Mise au point d'une microméthode de détection et de mesure d'activités enzymatiques (API ZYM). Résultats obtenus dans différents domaines d'application. Thèse (Docteur ingénieur), Lyon, 1978.
- 216- MONTAGNA W., CHASE H.B., LOBITZ W.C., Jr.: Histology and Cytochemistry of human skin.II. The distribution of glycogen in the epidermis, hair follicles, sebaceous glands, and eccrine sweat glands. *Anat. Rec.*, 1952, 114, 231-301.
- 217- MONTAGNA W., FORMISANO V.: Histology and Cytochemistry of human skin.VII. The distribution of succinic dehydrogenase activity. *Anat. Rec.*, 1955, 122, 65-77.
- 218- MONTAGNA W.: Histology and Cytochemistry of human skin.IX. The distribution of non-specific Esterases. *J. Biophys. Cytol.*, 1955, 1, 13-16.
- 219- MORETTI G., MESCON H.: A chemical-histochemical evaluation of acid phosphatase activity in human skin. *J. Histochem. Cytochem.*, 1956, 4, 247-253.
- 220- MORETTI G., MESCON H.: Histochemical distribution of acid phosphatase in normal skin. *J. Invest. Dermatol.*, 1956, 26, 347-351.
- 221- MORETTI G., ADACHI K., ELLIS R.A.: Regional differences in acid phosphatase and tween esterase activity in the epidermis of the chimpanzee and the macaque. *J. Histochem. Cytochem.*, 1960, 8, 237.
- 222- MORGAN M.R.J.: Gut carbohydrases in locusts and Grasshoppers. *Acrida*, 1976, 5, 45-58.
- 223- MOULIN A. DU, SCHULTZ J.: Effect of some phosphodiesterase inhibitors on two different preparations of adenosine 3',5'-monophosphate phosphodiesterase. *Experimentia*, 1975, 31, 883.
- 224- MUI M.M., HSIA S.L., HALPRIN K.M.: Further studies on adenylyl cyclase in Psoriasis. *Br. J. Dermatol.*, 1975, 92, 255-262.
- 225- NARDON P., PLANTEVIN G.: Utilisation d'une microméthode (Auxotab) pour la recherche qualitative d'activités enzymatiques dans les tissus d'Insectes. Tube digestif. *Ann. Zool. Ecol. Anim.*, 1972, 4, 229-248.
- 226- NARDON P., PLANTEVIN G.: Utilisation d'une microméthode (Auxotab) pour la recherche qualitative d'activités enzymatiques dans les tissus d'Insectes. Ovaires et Embryons, influence de la diapause. *C. R. Acad. Sci. Paris*, 1970, 271, 2350-2353, Série D.
- 227- NARDON P., MONGET D., DIDIER-FICHET M.L., DE THE G.: Comparison of zymogram of three lymphoblastoid cell lines with a new microtechnique. *Biomedicine*, 1976, 24, 183-190.
- 228- NEGI D.S., STEPHENS R.J.: An improved method for the histochemical localization of glucose-6-phosphate dehydrogenase in animal and plant tissues. *J. Histochem. Cytochem.*, 1977, 25, 149-154.
- 229- NEUWELT E.A., FRANK J.J., LEVY C.C.: Purification of human spleen ribonuclease by immunoabsorption. Similarity on the enzyme with liver ribonuclease. *J. Biol. Chem.*, 1976, 251, 5752-5758.

- 230- NEVILLE-JONES D., PETERS R.A.: Further observations on the proteolytic enzymes in the rat skin. *Biochem. J.*, 1948, 43, 303.
- 231- NISSELBAUM J.S., BODANSKY O.: Purification, kinetic and immunochemical studies of the major variants of lactic dehydrogenase from human liver, hepatoma and erythrocytes. Comparison with the major variant of human heart lactic dehydrogenase. *J. Biol. Chem.*, 1963, 238, 969.
- 232- NOVIKOFF A.B., MASEK B.: Survival of lactic dehydrogenase and DPNH-diaphorase activities after formol-calcium fixation. *J. Histochem. Cytochem.*, 1958, 6, 217-225.
- 233- OCKERMAN P.A.: Acid hydrolases in skin and plasma in Gargoylism. Deficiency of α -galactosidase in skin. *Clinica Chim. Acta*, 1968, 20, 1.
- 234- OCKERMAN P.A., KOHLIN P.: Tissue acid hydrolases activities in Gaucher's disease. *Scand. J. Clin. Lab. Invest.*, 1968, 22, 62-66.
- 235- OCKERMAN P.A.: Acid hydrolases in human skin. *Acta Derm. Venereol.*, 1969, 49, 139.
- 236- ODLAND G.: The morphology of the attachment between the dermis and the epidermis. *Anat. Rec.*, 1950, 108, 399-406.
- 237- OGAWA H., GOLDSMITH L.A.: Human epidermal transaminase. *J. Biol. Chem.*, 1976, 251, 7281-7288.
- 238- OHKAWARA A., HALPRIN K.M.: Carbohydrate metabolism in the involved psoriatic epidermis. Proc. Internat. Symp. Stanf., University, Farber E. M. and Cow A. J., Edit., 1971, p.239-254.
- 239- OHKAWARA A., HALPRIN K.M., TAYLOR J.R., LEVINE V.: Acid hydrolases in the human epidermis. *Br. J. Dermatol.*, 1972, 83, 450-459.
- 240- OLSON R.L., NORDQUIST R.E.: Ultramicroscopic localization of acid phosphatase in human epidermis. *J. Invest. Dermatol.*, 1966, 46, 431-435.
- 241- OLSON R.L., NORDQUIST R.E., EVERETT M.A.: Ultrastructural localization of aryl sulfatase in human epidermis. *Acta Derm. Venereol.*, 1968, 48, 556.
- 242- ORLOWSKY M., SZEWCZUK A.: Determination of γ -glutamyl transpeptidase activity in human serum and urine. *Clin. Chim. Acta*, 1962, 7, 755-760.
- 243- ORLOWSKY M., MEISTER A.: The γ -glutamyl Cycle. A possible transport System for Amino Acids. *Proc. Natl. Acad. Sci. U. S.*, 1970, 67, 1248-1255.
- 244- PADYKULA H.A.: The localisation of succinic dehydrogenase in tissue sections of the rat. *Am. J. Anat.*, 1952, 91, 107-146.
- 245- PADYKULA H.A., HERMAN E.: Factors affecting the activity of adenosine triphosphatase and other phosphatases as measured by histochemical techniques. *J. Histochem. Cytochem.*, 1955, 3, 161.
- 246- PATTERSON E.K., HSIAO S.H., KEPPEL A.: Studies on peptidases and aminopeptidases. I. Distribution between leucine aminopeptidase and enzymes that hydrolyse L-leucyl-2-naphtylamide. *J. Biol. Chem.*, 1963, 238, 3611-3620.
- 247- PAUL E., ILLIG L.: Histochemische untersuchungen an dermalen Naevuszell-naevi. *Arch. Derm. Forsch.*, 1974, 251, 133.
- 248- PEARSE A.G.E., SCARPELLI D.G.: Cytochemical localization of succinic dehydrogenase in mitochondria from *periplaneta americana*. *Nature*, 1958, 181, 702-704.

- 249- PETZOLDT D.: Enzyme des energieliefernden Stoffwechsels in Naevuszellen. Eine histochemische Untersuchung. *Arch. Klin. Exp. Dermatol.*, 1967, 228, 136-145.
- 250- PIRILA V., ERANKO O.: Distribution of histochemically demonstrable alkaline phosphatase in normal and pathologic human skin. *Acta Pathol. Microbiol. Scand.*, 1950, 27, 650.
- 251- PLANTEVIN G., NARDON P., LAVIOLETTE P.: Evolution de l'activité enzymatique du mésentéron de larves de *Galleria mellonella* en culture. Sd. Intern. Colloquium on Invertebrate Tissue Culture, Tremezzo, 1967, 81-101.
- 252- PLANTEVIN G., NARDON P.: Utilisation d'une microméthode (AUXOTAB) de détection pour la recherche qualitative d'activités enzymatiques dans les tissus d'insectes. Tube digestif. *Ann. Zool. Ecol. Anim.*, 1972, 4, 229-248.
- 253- PLEWIG G., FULTON J.E., KLIGMANN A.M.: Cellular dynamics of comedo formation in acne vulgaris. *Arch. Derm. Forsch.*, 1971, 242, 12-29.
- 254- POMERANTZ S.H., ASBORNSSEN M.T.: Glucose metabolism in young rat skin. *Arch. Biochem.*, 1961, 93, 147.
- 255- POOLE A.R.: Tumor lysosomal enzymes and invasive growth. In: Lysosomes in biology and pathology. Vol.III. Amsterdam, London, New-York, North-Holland. 1973, p.303-337.
- 256- PORTER D., SHUSTER S.: A new method for measuring replacement of epidermis and stratum corneum in human skin. *J. Invest. Dermatol.*, 1967, 49, 251-254.
- 257- PROCTOR M.S., FLETCHER M.V., SHUKLA M.S., RENNERT O.M.: Elevated spermidine and spermine levels in the blood of psoriasis patients. *J. Invest. Dermatol.*, 1975, 65, 409-411.
- 258- PRUTKIN L., BOGART B.: An ultrastructural study of the location of acid phosphatase activity in the untreated and vitamine A acid treated keratoacanthoma. *J. Invest. Dermatol.*, 1970, 54, 126.
- 259- PULLMANN H., LENNARTZ K.J., STEIGLEDER G.K.: In vitro examination of cell proliferation in normal and psoriatic epidermis with special regard to diurnal variations. *Arch. Derm. Forsch.*, 1974, 250, 177-184.
- 260- QUEVEDO W.C., Jr.: Lactate dehydrogenase isozymes of mouse epidermis. *Experientia*, 1975, 31, 1034-1036.
- 261- RASSNER G.: Zur enzymatischen organisation des energieliefernden stoffwechsels der normalen meerschweinchenhaut.II. *Arch. Klin. Exp. Derm.*, 1965, 22, 391.
- 262- RASSNER G.: Aktivitätsmuster von enzymen des energieliefernden stoffwechsels in normaler menschlicher epidermis und bei psoriasis vulgaris.I. *Arch. Klin. Exp. Derm.*, 1966, 225, 398.
- 263- RAVIN H.A., SELIGMAN A.M.: Determinants for the specificity of action of pancreatic lipase. *Arch. Biochem. Biophys.*, 1953, 42, 337-354.
- 264- RAVIN H.A., BERNSTEIN P., SELIGMAN A.M.: A colorimetric micromethod for the estimation of chymotrypsin activity. *J. Biol. Chem.*, 1954, 208, 1-15.
- 265- REAVEN E.P., COX A.J.: Histidine and keratinization. *J. Invest. Dermatol.*, 1965, 45, 422-424.

- 266- REID J., JARRETT A.: Enzymatic and histological effects of a standart stimulus. *Arch. Dermatol.*, 1967, 95, 632.
- 267- RIBUFFO A.: Metabolismo glicidico cutaneo dell'invecchiamento. "Dinamica dell'invecchiamento della pelle". *Minerva Med.*, 1956, 47, 1515.
- 268- ROBINSON D., THORPE R.: Affinity chromatography of human liver α -L-fucosidase. *Febs Letters*, 1974, 45, 191-193.
- 269- ROELFZEMA H., VAN DEN HURK J.J.M.A., MIER P.D.: Acid hydrolases activity in normal human callus and in psoriatic scales. *Dermatologica*, 1976, 152, 337-339.
- 270- ROGERS G.E.: The localization of dehydrogenase activity and sulfhydryl groups in wool and hair follicles by the use of tetrazolium salts. *Quart. J. Micro. Sci.*, 1953, 94, 253-268.
- 271- ROTHBERG S., CROUNSE R.G., LEE J.L.: Glycine C14 incorporation into the proteins of normal stratum corneum and the abnormal stratum corneum of psoriasis. *J. Invest. Dermatol.*, 1961, 37, 497-502.
- 272- ROTHMAN S.: Physiology and biochemistry of skin. Univ. Chicago Press, 1954, Chicago, Illinois.
- 273- ROTHMAN S.: Physiologische und pathologische Verhornung. *Arch. Dermatol. u. Syphilis*, 1955, 200, 23.
- 274- ROWDEN G.: Ultrastructural studies of keratinized epithelia of the mouse. II. Aryl sulphatase in lysosomes of mouse epidermis and oesophageal epithelium. *J. Invest. Dermatol.*, 1968, 51, 51-55.
- 275- ROWE L., DIXON W.J., FORSYTHE A.: Mitoses in normal and psoriatic epidermis. *Br. J. Dermatol.*, 1978, 98, 293-299.
- 276- RYDEN G.: Cystine aminopeptidase activity in pregnancy. III. A comparison between cystine aminopeptidase activity in maternal blood and urinary estradiol excretion during pregnancy. *Acta Obstet. Gynecol. Scand.*, 1974, 53, 341-345.
- 277- SALFELD K.: Zur Frage des energieliefernden Stoffwechsels und des Aminosäure-metabolismus der alternden Haut. II. Mitteilung. *Arch. Klin. Exp. Derm.*, 1966, 225, 93-98.
- 278- SANTOIANNI P., ROTHMAN S.: Nucleic acid splitting enzymes in human epidermis and their possible role in keratinization. *J. Invest. Dermatol.*, 1961, 37, 489-493.
- 279- SASAI Y.: Lactic dehydrogenase activity in human epidermis: semi quantitative histochemical study. *Tohoku J. Exp. Med.*, 1972, 108, 327-336.
- 280- SCHAMBERGER R.J.: Lysosomal enzymes changes in growing and regressing mammary tumors. *Biochem. J.*, 1969, 111, 375.
- 281- SCHELL H., ROSENBERG H., HORNSTEIN O.P., WAVRA E.: Autoradiographic in vivo studies on diurnal variations in human cell proliferation. *Arch. Derm. Res.*, 1977, 257, 265-272.
- 282- SCHWERT G.W., WINER A.D.: Lactate dehydrogenase. In: The Enzymes. Edited by Boyer P.D., Lardy H., Myrbäck K., New York, Academic Press, Vol. 7, 1963, p. 127.
- 283- SEIJI M., OTAKI N.: Lysosomes in mouse melanoma. *J. Invest. Dermatol.*, 1971, 56, 436-440.
- 284- SELYE H.: The mast cells. Butterworths, Washington, 1965, p. 325.

- 285- SERRI F.: La succini deidraasi nella cuta umana normale e patologica. *Minerva Dermatol.*, 1955, 30, 4.
- 286- SERRI F., RABBIOSI G.: Indagine sull'attivita enzimatica cutanea della deidraasi succinica nelle differenti eta della vita. *Minerva Med.*, 1956, 47, 1515.
- 287- SHELLEY W.B.: Apocrine sweat. *J. Invest. Dermatol.*, 1951, 17, 255-259.
- 288- SHELTON E., SCHNEIDER W.C.: On the usefulness of tetrazolium salts as histochemical indicators of dehydrogenase activity. *Anat. Rec.*, 1952, 112, 61-82.
- 289- SMITH J.G.: Psoriasis: new concepts of its pathogenesis. *South Med. J.*, 1977, 70, 1030-1031.
- 290- SPIER H.W., MARTIN K.: Histochemische untersuchungen über die phosphomonoesterasen du gesunden Haut mit Hinweis auf Befunde bei Hauterkrankungen. *Arch. Klin. u. Exptl. Dermatol.*, 1956, 202, 120.
- 291- SPIER H.W., VON CANEGHEM P.: Zur histochemie du verhornung. *Arch. Klin. u. Exptl. Dermatol.*, 1957, 206, 344.
- 292- STEIGLEDER G.K.: Zur funktion der acanthose. *Arch. Dermatol. u. Syph.*, 1955, 200, 377.
- 293- STEIGLEDER G.K., LOFFLER H.: Zur histochemischen Nachweis unspezifischer Esterasen und Lipasen. *Arch. Klin. u. Exptl. Dermatol.*, 1956, 203, 41.
- 294- STEIGLEDER G.K.: A critical analysis of the parakeratotic horn layer. 11th Intern. Congr. Dermatol., Stockholm, Sweden. Kongressberichts. *Excerpta Med. Sect.*, 1957, 13, 81.
- 295- STOUGHTON R., WELLS G.: A histochemical study on polysaccharides in normal and diseased skin. *J. Invest. Dermatol.*, 1950, 14, 37-43.
- 296- STUTTGEN G., WUST H.: Die Blaseubildung in den Hautschichten in fermentchemischer Sicht. *Arch. Klin. u. Exptl. Dermatol.*, 1957, 206, 403-407.
- 297- SUMNER J.B., SOMERS G.F.: Chemistry and Methods of Enzymes. 2nd ed., Academic Press, New York, 1947.
- 298- SZODORAY L., SELENYI A., KOCSIS A.: Uber den Zusammenhang zwischen Blasenbildung und Zellatmung. *Acta Morphol. Acad. Sci. Hung.*, 1956, 5, 351-356.
- 299- SZODORAY L., NAGY-VEZEKENYI C.: Histochemische Untersuchungen in melanotischen Wucherungen. *Derm. Wschr.*, 1965, 151, 2006-2015.
- 300- SZEWCZUK A., KWIATKWSKA J.: Pyrrolidonyl peptidase in animal, plant and human tissues. *Eur. J. Biochem.*, 15, 92-96.
- 301- TAKEUCHI T., HIGASHI K., WATAMUKI S.: Distribution of amylophosphorilase in various tissues of human and mammalian organs. *J. Histochem. Cytochem.*, 1955, 3, 485-491.
- 302- TATEISHI N., HIGASHI T., NOMURA T., NARUSE A., NAKASHIMA K., SHIOZAKI H., SAKAMOTO Y.: Higher Transpeptidation Activity and Broad Acceptor Specificity of γ -Glutamyl Transferases of Tumors. *Gann*, 1976, 67, 215-222.
- 303- THIVOLET J., VOULOT C., ORTONNE J.P., BUSTAMANTE R.: Application d'une méthode de détection d'activités enzymatiques multiples à divers extraits de tissus cutanés et mélaniques. *Ann. Derm. Syphil.*, 1976, 103, 296-300.
- 304- UNNA P.G.: Biochemie der Haut. Fischer, Jena, Germany, 1913.

- 305- UNNA P.G.: Lebeusvorgänge in der Haut des menschen und der Tiere; Für Ärzte Tierärzte, Biologen und naturwissenschaftlich Interessierte. Denticke. Leipzig, Germany, 1925.
- 306- URBACH E., FANTL P.: Methoden zur quantitative-chemischen analyse der Haut. I. *Biochem. Ztschr.*, 1928, 196, 471-473.
- 307- URBACH F., SHELLEY W.B.: A rapid and simple method for obtaining punch bio-sies without anesthesia. *J. Invest. Dermatol.*, 1951, 17, 131-134.
- 308- VAQUERO C., GUIGNON M., MASSON C., LECORDIER J., HEWITT J.: Activité de la -glycuronidase dans le mélanome B₁₆ de la souris. *Ann.Dermatol. Syphil.*, 1971, 98, 518-520.
- 309- VELICK S.F., FURFINE C.: Glyceraldehyde-3-phosphate dehydrogenase. In: The Enzymes, edited by P.D. Boyer, H. Lardy, and K. Myrback, New York, Academic Press, 1963, p. 243.
- 310- VOLDEN G.: Acid hydrolases in blister fluid.I. Characterisation and quantifi-cation of acid phosphatase. *Br. J. Dermatol.*, 1978, 98, 273-280.
- 311- VOLDEN G.: Acid hydrolases in blister fluid.II. Characterisation and quanti-fication of glycoside hydrolases. *Br. J. Dermatol.*, 1978, 98, 281-286.
- 312- VON GLASENAPP I., LEONHARDI G.: Du biologische oxydation in der menschlichen Haut. *Arch. Dermatol. Syphilis*, 1953, 196, 319-324.
- 313- VOORHEES J.J., STAWISKI M., DUELL E.A.: Increased cyclic GMP and decreased cyclic AMP levels in the hyperplastic, abnormally differentiated epi-dermis of psoriasis. *Life Sciences*, 1973, 13, 639.
- 314- VOORHEES J.J.: Pathophysiology of psoriasis. *Annu. Rev. Med.*, 1977, 28, 467-473.
- 315- VORBRODT A.: Histochemical studies and the intranuclear localization of acid deoxyribonuclease. *J. Histochem. Cytochem.*, 1961, 9, 647-653.
- 316- WACHSTEIN M., MEISEL E.: Histochemistry of hepatic phosphatases at a phy-siologic pH, with special reference to the demonstration of bile cana-liculi. *Am. J. Clin. Path.*, 1957, 27, 13.
- 317- WAEHNELDT T.V.: Ontogenic study of a myelin-derived fraction with 2',3'-cyclic nucleotide 3'-phosphohydrolase activity higher than that of mye-lin. *Biochem. J.*, 1975, 151, 435-437.
- 318- WARBURG O.: On the origin of cancer cells. *Science*, 1956, 123, 309-314.
- 319- WATANUKI S.: Histochemical distribution of tissue amylophosphorylase in various animals. *Igaku Kenkyu (Acta Medica)*, 1957, 27, 1059-1128.
- 320- WEBER G.: Über das Verhalten der Aldolase-Aktivität im Blutserum und der Hautblasenflüssigkeit bei Dermatosen. *Dermatol. Wochschr.*, 1958, 138, 737-741.
- 321- WEBER G., WILDNER I.: Über die Milchsäuredehydrogenase Aktivität im Blut und der Hautblasenflüssigkeit bei Dermatosen. *Dermatol. Wochs.*, 1958, 138, 767-771.
- 322- WEBER G., THEISEN H.: Zum Nachweis enzymatischer Mechanismen in menschlicher Epidermis am Modell der Subepidermalen Blase. *Arch. Klin. u. Exptl. Dermatol.*, 1959, 208, 459-469.
- 323- WEBER G.: Über das Vorkommen der Milchsäuredehydrogenase in pathologisch Veränderter menschlicher Hornschicht. *Arch. Klin. u. Exptl. Dermatol.*, 1959, 208, 362-366.

- 324- WEBER G., PFLEIDERER G.: Isozymes in human epidermis. *Ann. N. Y. Acad. Sci.*, 1961, 94, 933-936.
- 325- WEBER G.: Enzymes in the human skin. *Australian J. Dermatol.*, 1962, 6, 141-154.
- 326- WEBER G.: Über das vorkommen der Glucose-6-phosphat-dehydrogenase im blutserum von Psoriasis Vulgaris-kranken. *Arch. Klin. u. Exptl. Dermatol.*, 1963, 215, 603-612.
- 327- WEBER G.: Discussion, in Proceedings of the XII International Congress of Dermatology, September 1962, Washington, D.C., edited by Pillsbury D.M., and Livingood C.S., Amsterdam, The Netherlands, Excerpta Medica Foundation, 1963, p.162.
- 328- WEBER G., KORTING G.W.: Glucose-6-phosphate in human skin. *J. Invest. Dermatol.*, 1964, 42, 167-169.
- 329- WEBER G.: Some aspects of the carbohydrate metabolism enzymes in the human epidermis under normal and pathological conditions. In: The Epidermis. Montagna W. and Libitz W.C. (eds), Academic Press, London, 1964, p.453.
- 330- WEDELL G., COWAN M.A., PALMAR E., RAMASWAMY S.: Psoriatic skin. *Arch. Dermatol.*, 1965, 91, 252.
- 331- WEINSTEIN G.D., VAN SCOTT E.J.: Autoradiographic analysis of turnover times of normal and psoriatic epidermis. *J. Invest. Dermatol.*, 1965, 45, 257-361.
- 332- WEINSTEIN G.D., FROST P.: Abnormal cell proliferation in psoriasis. *J. Invest. Dermatol.*, 1968, 50, 254-259.
- 333- WEINSTEIN G.D., FROST P.: Cell proliferation kinetics in benign and malignant skin. Diseases in humans. *Natl. Cancer Inst. Monograph.*, 1969, 30, 225-245.
- 334- WEIRICH G., WREN J., SIDDALL J.B.: Developmental changes of the juvenile hormone esterase activity in haemolymph of the tobacco hornworm, *Mandula sexta*. *Insect. Biochem.*, 1973, 3, 397-407.
- 335- WELLS G.C., BABCOCK C.: Epidermal protease. *J. Invest. Dermatol.*, 1953, 21, 459-463.
- 336- WELLS G.C.: Esterases in normal human skin and in chronic granulomata. In: Progress in the Biological Sciences in relation to Dermatology. Camb. Univ. Press, 1960, p.120.
- 337- WENNER C.: Progress in tumor enzymology. In: Advances in Enzymology. Wiley and Sons, Chichester, vol. 29, 1967, p.321-390.
- 338- WIELAND T., PFLEIDERER G.: Nachweis der heterogenität von milchauredhydrogenasen verschiedenen ursprungs durch tragerelectrophorese. *Biochem. Z.*, 1957, 329, 112-116.
- 339- WINTERSBERGER E., MULLER-HARTBURG W., TUPPY H.: Eine einfache methode zur chemischen bestimmung des oxytocinase aktivität in schwangerenserren. *Clin. Chim. Acta*, 1966, 14, 786-792.
- 340- WOHLGEMUTH J., KLOPSTOCK E.: Die Fermente der Haut. In: Physiology and Biochemistry of the Skin. Rothman S., Chicago, University of Chicago Press, 1954, p.472.
- 341- WOHNLIICH H.: Nachweis Glycogen-spaltender Fermente in Hautdialysat und Schweiss. *Ber. Ges. Physiol. Exptl. Pharmacol.*, 1956, 180, 130-131.

- 342- WOHNLIH H.: Nachweis von Amylase (Diastase), α -glucosidase und Phosphorylasen im menschlichen Schweiss. *Z. Physiol. Chem.*, 1957, 308, 197.
- 343- WRIGHT R.K., MANDY S.H., HALPRIN K.M., HSIA S.L.: Defects and deficiency of adenyl cyclase in psoriatic skin. *Arch. Dermatol.*, 1973, 107, 47-53.
- 344- WU R., RACKER E.: Regulatory mechanisms in carbohydrate metabolism.III. Limiting factors in glycolysis of ascites tumor cells. *J. Biol. Chem.*, 1959, 234, 1029.
- 345- WUST H.: Über die Aldolase-Aktivität der Haut. *Arch. Klin. u. Exptl. Dermatol.*, 1956, 203, 15-22.
- 346- YAMADA K., SHIMAZONO N.: Recognition and solubilization of glucose-6-phosphate and 6-phosphogluconate dehydrogenases in the particle fraction of the brain. *Biochim. Biophys. Acta*, 1961, 54, 205.
- 347- YAMASAWA S., CERIMELE D., SERRI F.: The activity of metabolic enzymes of human epidermis in relation to age. *Br. J. Dermatol.*, 1972, 86, 134-140.
- 348- YAMOTO K., HANDA S., YAMAKAWA T.: Purification of arylsulfate A from boar testis and its activities toward seminolipid and sulfatide. *J. Biochem.*, 1974, 75, 1241-1247.
- 349- ZBYTNIIEWSKI Z., DREWA G.: Proteolytic activity of the homogenates of transplantable melanotic and amelanotic melanoma in golden hamster (*Mesocricetus auratus*, Waterhouse). *Pol. Med. J.*, 1972, 11, 397-404.
- 350- ZELICKSON A.S.: Histochemical localization of mitochondria in human skin. *J. Invest. Dermatol.*, 1960, 35, 265-268.
- 351- ZELICKSON A.S.: The fine structure of the human melanotic and amelanotic malignant melanoma. *J. Invest. Dermatol.*, 1962, 39, 605-613.
-

